

Die Wachstumsparameter Adiponektin und IGFBP-2:

Maternale und fetale Serumkonzentration sowie mRNA-Expression in
Plazenta und mononukleären Zellen als Einflussfaktoren auf fetale
Wachstumsregulation

Dissertation

Zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von

Heike Gerda de Vries

geboren am 30. August 1982 in Leer/Ostfriesland

Gutachter

1. Prof. Dr. E. Schleußner, Jena
2. PD Dr. A. Hübler, Jena
3. Prof. Dr. J. Dötsch, Köln

Tag der Disputation: 2. August 2011

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung	1
2	Einleitung	3
2.1	Fetales Wachstum	3
2.1.1	Grundlagen fetalen Wachstums	3
2.1.2	Pathologisches Wachstum in der Fetalperiode	5
2.2	Adiponektin	6
2.2.1	Biochemische Grundlagen	6
2.2.2	Der Einfluss von Adiponektin auf fetales Wachstum	9
2.3	IGFBP-2	11
2.3.1	Das IGF/IGFBP-System	11
2.3.2	Biochemische Grundlagen des IGFBP-2	14
2.3.3	Der Einfluss von IGFBP-2 auf fetales Wachstum	16
3	Ziele der Arbeit	18
4	Methodik	20
4.1	Materialliste	20
4.2	Beschreibung des Gesamtmaterials	21
4.2.1	Erhebung mütterlicher Daten	22
4.2.2	Erhebung kindlicher Daten	22
4.2.3	Eigenschaften der untersuchten Plazenten	23
4.3	Aufarbeitung des gewonnenen Materials	23
4.3.1	Mütterliches und fetales Serum	23
4.3.2	Mütterliche und fetale Lymphozyten	24
4.3.3	Plazentagewebe	24
4.4	Untersuchungsmethoden	25
4.4.1	Bestimmung der Serumkonzentration mittels ELISA	25
4.4.2	Bestimmung der Genexpression mittels PCR	26
4.5	Statistik	34
5	Ergebnisse	36
5.1	Darstellung des Serummaterials	36
5.1.1	Vergleich mütterlicher und fetaler Serumkonzentrationen	36

5.1.2	Vergleich geschlechtsspezifischer Unterschiede in fetalen Serumkonzentrationen	39
5.1.3	Vergleich fetaler Serumkonzentrationen bei unterschiedlichem Geburtsstress	40
5.1.4	Zusammenhang zwischen Adiponektin- und IGFBP-2-Serumkonzentrationen und den erhobenen klinischen Daten von Müttern und Neugeborenen	41
5.1.5	Zusammenhang zwischen IGFBP-2-Serumkonzentrationen und den erhobenen klinischen Daten von Müttern und Neugeborenen	50
5.1.6	Korrelation der Adiponektinkonzentration und der IGFBP-2-Konzentration im mütterlichen Serum sowie im Nabelschnurblut	52
5.2	Darstellung der Genexpression in Plazenten	54
5.2.1	Verteilung der Einzelwerte	54
5.2.2	Vergleich geschlechtsspezifischer Unterschiede der Adiponektin- und IGFBP-2 Genexpression	55
5.2.3	Korrelation der Adiponektinexpression und der IGFBP-2-Expression in der Plazenta	56
5.2.4	Zusammenhang zwischen Adiponektin- und IGFBP-2-mRNA-Expression in der Plazenta und den erhobenen klinischen Daten von Müttern und Neugeborenen	56
5.3	mRNA-Expression in mütterlichen und fetalen mononukleären Zellen . . .	60
5.3.1	Beschreibung der Einzelwerte	60
5.3.2	Zusammenhänge der IGFBP-2-mRNA-Expression in mononukleären Zellen und den erhobenen klinischen Parametern	61
5.3.3	Zusammenfassende Darstellung der mRNA-Expression von Adiponektin und IGFBP-2 in Plazenten, mütterlichen und fetalen mononukleärer Zellen	65
5.4	Gegenüberstellung der Serumkonzentrationen und der Genexpressionen . .	66
5.4.1	Korrelationen zwischen den Serumkonzentrationen Adiponektin und der untersuchten Genexpression in Plazenten und mononukleären Zellen	66
5.4.2	Korrelation der IGFBP-2-Serumkonzentration und der Genexpression in Plazenten und mononukleären Zellen	66
5.5	Korrelation der IGFBP-2-mRNA-Expression in Plazenten und mononukleären Zellen	68

6	Diskussion	69
6.1	Das Verhalten der Adiponektin-Serumkonzentrationen	69
6.1.1	Adiponektin im mütterlichen Serum und dessen Einfluss auf das fetale Wachstum	69
6.1.2	Adiponektin im Nabelschnurblut und dessen Einfluss auf das fetale Wachstum	72
6.2	Das Verhalten der IGFBP-2-Serumkonzentrationen	76
6.2.1	IGFBP-2 im mütterlichen Serum und dessen Einfluss auf das fetale Wachstum	76
6.2.2	IGFBP-2 im Nabelschnurblut und dessen Einfluss auf das fetale Wachstum	78
6.3	Die Genexpression von Adiponektin und IGFBP-2 in Plazenten und mononukleären Zellen	84
6.3.1	Die Genexpression von Adiponektin und deren Bedeutung für das intrauterine Wachstum	84
6.3.2	Die Genexpression von IGFBP-2 und deren Bedeutung für das intrauterine Wachstum	87
6.4	Interaktion zwischen Adiponektin und IGFBP-2 im Bezug auf die fetoplazentare Entwicklung	90
6.4.1	Interaktionen zwischen Adiponektin und IGFBP-2 im maternalen Organismus	90
6.4.2	Interaktionen von Adiponektin und IGFBP-2 im Fetus sowie zwischen maternalem und fetalem Organismus	92
6.4.3	Interaktionen zwischen Adiponektin und IGFBP-2 auf Genexpressionsebene	93
7	Schlussfolgerung	94
	Literaturverzeichnis	I
	Ehrenwörtliche Erklärung	XVI
	Lebenslauf	XVII
	Danksagung	XVIII

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	–	Abbildung
AdipoR1	–	Adiponektinrezeptor 1
AdipoR2	–	Adiponektinrezeptor 2
AGA	–	appropriate-for-gestational-age
AMPK	–	5' Adenosine monophosphate-activated protein kinase
APM1	–	Adipose most abundant Gene Transcript 1
Arg	–	Argenin
Asp	–	Asparaginsäure
BMI	–	Body-Mass-Index
C/EBP β	–	CCAAT-enhancer-binding protein β
cDNA	–	complementary DNA
CrP	–	C-reaktives Protein
C _t	–	Grenzwertzyklus
dATP	–	Desoxyadenosintriphosphat
dCTP	–	Desoxycytidintriphosphat
dGTP	–	Desoxyguanosintriphosphat
DMSO	–	Dimethylsulfoxid
DNA	–	Desoxyribonukleinsäure
DNase	–	Desoxyribonuklease
dNTP	–	Desoxynukleinsäuretriphosphat
dTTP	–	Desoxythymidintriphosphat
ELISA	–	Enzyme-linked Immunosorbent Assay (Enzymgekoppelter Immunabsorptionstest)
EPC	–	ectoplazentare Zellzone
EVT	–	Extravillöser Trophoblast
FRET	–	Fluoreszenz Resonanz Energie Transfer
GDM	–	Gestationsdiabetes
GLUT-4	–	Glukosetransporter Typ 4
Gly	–	Glycin
H ₂ O ₂	–	Wasserstoffperoxid
Hb	–	Hämoglobin
hGH	–	human growth factor

Hk	–	Hämatokrit
HKG	–	Housekeeping-Gen
HMW	–	High molecular weight form
HOMA	–	Homeostasis Model Assessment
HPLC	–	High Performance Liquid Chromatography
IGF	–	Insulin-like growth factor
igf1r	–	Gen des IGF1R
IGF1R	–	Typ-1-IGF-Rezeptor
igf2	–	Gen des IGF-II
IGF2R	–	Typ-2-IGF-Rezeptor
IGFBP	–	Insulin-like growth factor binding proteins
IGFBP-1	–	Insulin-like growth factor binding protein 1
IGFBP-2	–	Insulin-like growth factor binding protein 2
IGFBP-3	–	Insulin-like growth factor binding protein 3
IGFBP-5	–	Insulin-like growth factor binding protein 5
IGF-I	–	Insulin-like growth factor-I
IGF-II	–	Insulin-like growth factor-II
IL-6	–	Interleukin-6
IUGR	–	intrauterine Wachstumsretardierung
LGA	–	large-for-gestational-age
LMW	–	Low molecular weight form
MAPK	–	Mitogenaktivierte Proteinkinase
MCP1	–	monocyte chemotactic protein-1
MgCl ₂	–	Magnesiumchlorid
MMW	–	medium molecular weight form
MNC	–	mononukleäre Zellen
mRNA	–	messenger-RNA
n	–	Anzahl
NaCl	–	Natriumchlorid
NF-Y	–	Nuclear transcription factor Y
PCR	–	polymerase-chain-reaction (Polymerasekettenreaktion)
PEPCK	–	Phosphoenolpyruvate carboxykinase
POD	–	Streptavidin-Peroxidase-Enzymkonjugat
PPAR α	–	Peroxisome proliferator-activated receptor- α
PPAR γ	–	Peroxisome proliferator-activated receptor- γ

Q	–	Quencherfarbstoff
QUICKI	–	quantitative insulin sensitivity check index
R	–	Reporterfarbstoff
RNA	–	Ribonukleinsäure
RNase	–	Ribonuklease
RPMI	–	Roswell Park Memorial Institute (Institut, das diesem Medium den Namen gab)
RXR- α	–	PPAR- γ -retinoidX-Rezeptor- α
SGA	–	small-for-gestational-age
Slc2a3	–	solute carrier family 2a3
Slc38a4	–	solute carrier family 38a4
SREBP-1c	–	sterol regulatory element-binding protein 1c
SS	–	Schwangerschaft
SSW	–	Schwangerschaftswoche
Tab.	–	Tabelle
TGC	–	trophoblast giant cells
TNF- α	–	Tumor-Nekrose-Faktor- α

Verwendete Einheiten und Präfixe

Da	–	Dalton
g	–	Gramm
l	–	Liter
m	–	Meter
°C	–	Grad Celsius
M	–	Mol
UpM	–	Umdrehungen pro Minute
k	–	kilo
c	–	zenti
m	–	milli
μ	–	mikro
n	–	nano

Zusammenfassung

Während der intrauterinen Entwicklung erfährt der menschliche Organismus das größte Wachstumspotential. Pathologien wie intrauterine Wachstumsretardierung (IUGR) oder das Gegenteil, die Makrosomie, sind nicht nur vergesellschaftet mit geburtshilflichen Komplikationen, sondern nehmen auch Einfluss auf die postnatale Entwicklung. Daher ist es von Relevanz Mechanismen, die das fetale Wachstum beeinflussen, zu identifizieren und zu verstehen, um daraus Möglichkeiten für Diagnostik und Therapie zu entwickeln.

Adiponektin ist ein Adipozytokin, dessen insulinsensitivierende, antiinflammatorische und vasoprotektive Eigenschaften insbesondere bei der Erforschung von Stoffwechselerkrankungen, wie Diabetes mellitus, Beachtung finden. Neue Studien weisen aber auch auf einen entscheidenden Einfluss des Adiponektins auf das fetale Wachstum hin.

Das IGFBP-2, als zweithäufigstes IGF-Bindungsprotein im fetalen Organismus, hat vornehmlich über die Bindung von IGF-II wachstumsbeeinflussende Effekte. Jedoch wird zunehmend erkannt, dass IGFBP-2 auch unabhängig von IGF wirken kann. Sowohl die Serumkonzentration von Adiponektin als auch die des IGFBP-2 liegen im Nabelschnurblut deutlich höher als im Serum Erwachsener. Während die aktuellen Ergebnisse zeigen, dass Adiponektin dabei positiv auf das fetale Wachstum wirkt, lassen sich besonders hohe IGFBP-2-Konzentrationen mit IUGR in Verbindung bringen, so dass ein negativer Einfluss auf die fetale Entwicklung diskutiert wird. Speziell für IGFBP-1 und IGFBP-3 konnte gezeigt werden, dass IGF-Bindungsproteine auf Adiponektin und dessen Wirkungen Einfluss nehmen. Arbeiten, die Adiponektin und IGFBP-2 vergleichen, existieren nicht. Aufgrund der konträren Stellungen, die diese beiden Proteine auf das fetale Wachstum einnehmen, sahen wir uns veranlasst diese Lücke zu schließen. Dabei soll in dieser Arbeit erstmalig das Zusammenspiel von Adiponektin und IGFBP-2 in allen drei Kompartimenten der materno-plazento-fetalen Einheit betrachtet und es soll beantwortet werden,

- ob die mütterlichen und fetalen Serumkonzentrationen von Adiponektin in direkter Verbindung zum fetalen Wachstum stehen,
- welche klinischen Parameter Einfluss auf die IGFBP-2- und Adiponektinkonzentrationen nehmen,
- Welches Kompartiment der materno-plazento-fetalen Einheit zu den erhöhten Adiponektin- und IGFBP-2-Konzentrationen beiträgt
- und inwieweit sich die wachstumshemmende Wirkung des IGFBP-2 auf die Adiponek-

tinkonzentration und -expression auswirkt und darüber Einfluss auf das fetale Wachstum nimmt.

Die mRNA-Expression von Adiponektin und IGFBP-2 wurde in mütterlichen und fetalen mononukleären Zellen (MNC), als Zelltyp mesenchymalen Ursprungs, und in der Plazenta mittels Realtime-PCR untersucht. Serumkonzentrationen wurden anhand des ELISA Verfahrens bestimmt. Klinische Parameter wurden durch standardisierte Fragebögen und Laborblätter ermittelt.

Die Ergebnisse dieser Arbeiten zeigen, dass fetales Adiponektin positiv mit Geburtsgewicht und Reifealter korreliert. Maternales Adiponektin zeigt hingegen keinen Zusammenhang mit Wachstumsparametern des Feten. Allerdings korreliert maternales Adiponektin sowohl mit dem mütterlichen BMI als auch mit dem mütterlichen Körpergewicht. Die Realtime-PCR erbrachte, dass weder die Plazenta noch fetale oder maternale MNC Adiponektin-mRNA exprimieren. Somit kommen diese Gewebe für die im fetalen Serum erhöhten Adiponektinkonzentrationen nicht in Betracht. Bei regelrechter intrauteriner Entwicklung konnten weder dem maternalen noch dem fetalen IGFBP-2 wachstumshemmende Effekte zugeschrieben werden. Daher ist es wahrscheinlich, dass die Wirkungen des IGFBP-2 nur bei pathologischer Entwicklung zum Tragen kommen. Erstmalig konnte aber fetales IGFBP-2 als Marker für die Versorgungssituation des Feten durch die Plazenta identifiziert werden. Weiterhin konnte mit dieser Arbeit gezeigt werden, dass fetales IGFBP-2 mit der Stoffwechsellage der Mutter assoziiert ist. Daraus ergibt sich, dass fetales IGFBP-2 als Bindeglied zwischen mütterlicher Nährstoffbereitstellung, plazentarer Nährstoffversorgung und fetalem Wachstum fungiert. Diese Arbeit hat insbesondere das Augenmerk auf das Zusammenspiel zwischen Adiponektin und IGFBP-2 in allen Kompartimenten der materno-plazento-fetalen Einheit gelegt. Dabei lässt sich feststellen, dass keine Verbindung zwischen Adiponektin und dem IGF-System über das IGFBP-2 besteht. Weiterhin führen auch die IGF-unabhängigen Wirkungen des IGFBP-2 zu keiner Beeinflussung der hier untersuchten Adiponektinkonzentrationen bzw. -expressionen oder der Effekte, die durch Adiponektin verursacht werden. Während fetales Adiponektin im Feten selbst produziert wird und direkte Auswirkungen vornehmlich auf den fetalen Organismus hat, agiert fetales IGFBP-2 als Signalbote zwischen den Kompartimenten der materno-plazento-fetalen Einheit.

Einleitung

Abschnitt 2.1

Fetales Wachstum

2.1.1 Grundlagen fetalen Wachstums

Das intrauterine Wachstum ist gekennzeichnet durch die höchste Wachstumsrate im gesamten Leben. Innerhalb von 40 Wochen entwickelt sich die Zygote zu einem im Durchschnitt 51 cm großen Neugeborenen (Rosenbloom 2007). Bereits 1954 erkannten Caren and Morton, dass sich die Entwicklung des Feten in zwei Wachstumsphasen einteilen lässt (Caren 1954). In der ersten Phase, die sich von der Befruchtung der Eizelle bis zur vollendeten 12. Schwangerschaftswoche (SSW) erstreckt, steht die Organogenese im Vordergrund. Das Wachstum wird in dieser Zeit überwiegend genetisch kontrolliert und zeugt daher von der genetischen Prädisposition des Organismus. Ab dem zweiten Trimester ist das Wachstum des Feten maßgeblich von exogenen Faktoren abhängig, wie maternaler Ernährung und regelrechter Plazentafunktion. Fast 95 % seines Gewichts gewinnt der Fetus ab der zweiten Schwangerschaftshälfte. Diese enorme Gewichtszunahme bedingt einen erhöhten Sauerstoff- und Nährstoffbedarf des Feten und verlangt, dass von mütterlicher Seite dieser Bedarf gedeckt wird. Entscheidend für eine ausgeglichene Energiebilanz ist zu diesem Zeitpunkt die regelrechte Funktion der materno-plazento-fetalen Einheit, wobei die Plazenta als Bindeglied zwischen mütterlichem und fetalem Organismus eine herausragende Rolle einnimmt. Eine ihrer zwei wichtigsten Aufgaben ist der Transport von Nährstoffen und Sauerstoff aus dem mütterlichen Serum in den fetalen Organismus sowie die Abgabe von Metaboliten des Feten ins mütterliche Blut. Die andere entscheidende Aufgabe ist die Bildung und Sekretion unterschiedlicher Hormone. Die adäquate Durchblutung der Plazenta, und damit gemeint der regelrechte uteroplazentare und plazentaumbilikale Blutfluss, sind Voraussetzung für den Transport von Nährstoffen und für die endokrinen Funktionen und damit letztendlich für das fetale Wachstum.

Wird die hormonelle Regulation des Wachstums betrachtet, so fällt auf, dass es nicht das eine wachstumsverantwortliche Hormon gibt. Während postpartal Thyroxin elementare Bedeutung für das Wachstum hat, spielt es intrauterin kaum eine Rolle. Dies zeigt sich unter anderem daran, dass Kinder mit angeborener Fehlanlage der Schilddrüse, wie Athy-

reose, intrauterin keine Wachstumsretardierung aufweisen (Rosenbloom 2007). Auch das humane Wachstumshormon (hGH) nimmt pränatal für das kindliche Größenwachstum eher eine untergeordnete Rolle ein, obwohl es in erhöhter Konzentration im fetalen Serum vorkommt. Auch hier zeigen Kinder mit konnatalen Wachstumshormonmangel nur eine geringe Reduktion des intrauterinen Wachstums (Gluckman 1997). Für das Wachstum des Feten in utero ist, wie oben beschrieben, die Bereitstellung von Nährstoffen der zentrale Punkt. Hier stellt im Speziellen die Glukoseverfügbarkeit die wichtigste Voraussetzung neben der ausreichenden Sauerstoffaufnahme dar. Deshalb zeigt sich, dass das fetale Insulin große Bedeutung für das Wachstum hat. Es konnte gezeigt werden, dass Kinder mit Leprechaunismus, einem Defekt des Insulinrezeptors, wodurch Insulin nicht wirken kann, deutlich wachstumsredardiert sind (Rosenbloom 2007). Die Bereitstellung von Nährstoffen wird weiterhin über die von der Plazenta sezernierten Hormone gewährleistet. Das humane Plazentalactogen, bzw. aktuell als Somatomammilotropin bezeichnet, ist dafür von zentraler Bedeutung. Es wird sowohl in das mütterliche als auch in das fetale Serum abgegeben. Während es allerdings im mütterlichen Organismus zu Lipo- und Proteinolyse sowie zu erhöhter Glukoseintoleranz führt, aktiviert es im Fetus die Glukogensynthese sowie die Aufnahme von Aminosäuren in die Zellen und steigert die DNA- und RNA-Synthese. Das 1994 entdeckte Hormon Leptin wird ebenfalls von der Plazenta gebildet und fördert die Transportprozesse von Nährstoffen durch die Plazenta in den Fetus.

Jedoch ist die Bereitstellung von Nährstoffen nicht der einzige Mechanismus, der für das fetale Wachstum von Bedeutung ist. Die Somatomedine IGF-I und IGF-II sind neben dem Insulin die vom Fetus sezernierten Hormone, die wachstumsfördernd wirken. Hier ist bemerkenswert, dass ihre Funktion anders als im postnatalen Wachstum unabhängig vom hGH ist. Es lässt sich festhalten, dass die IGF-I-Spiegel Ausdruck der Entwicklung fetaler Organe sind und dass die Wirkung der Somatomedine im fetalen Organismus über autokrine und parakrine Prozesse erfolgt (Jones 1995). In jüngster Zeit wurden Untersuchungen angestellt, um weitere hormonelle Achsen zu identifizieren, die im fetalen Organismus auf das Wachstum wirken. Neben den Steroidhormonen, hierbei insbesondere das Testosteron, konnte ein Zusammenhang zwischen dem Adipozytokin Adiponektin und dem Geburtsgewicht Neugeborener entdeckt werden. Inwieweit dieses Hormon als endokriner Wachstumsfaktor fungiert, ist derzeit Gegenstand der Forschung.

2.1.2 Pathologisches Wachstum in der Fetalperiode

Mütterliche Infektionen während der Schwangerschaft, genetische Erkrankungen im mütterlichen und fetalen Organismus, Medikamente und Noxen sowie Traumata führen zu pathologischer Entwicklung des Feten. Dabei stellen die Makrosomie und die Wachstumsretardierung wichtige Pathologien in der Geburtshilfe dar. Sowohl bei zu großen als auch bei zu kleinen Kindern erhöhen sich Morbidität und Mortalität. In der vorliegenden Arbeit wird das Augenmerk auf die intrauterine Wachstumsretardierung (IUGR) gelegt, da sie in Industrieländern mit einer Inzidenz von 3-10 % das Hauptproblem in der modernen Geburtshilfe und Neonatologie darstellt. Denn neben den perinatalen Komplikationen, wie Geburtsasphyxie, intrakraniellen Blutungen und Hypoglykämie, hat ein reduziertes Wachstum in utero Auswirkungen auf die Langzeitmorbidität. So zeigen Kinder mit IUGR Auffälligkeiten im Sozialverhalten, Sprachentwicklungsverzögerungen, neurologische Defizite, besonders der Feinmotorik, sowie Beeinträchtigungen in der Schulleistung. Außerdem weisen neueste Studien darauf hin, dass die Stoffwechsellage in utero erheblichen Einfluss auf den Stoffwechsel im weiteren Verlauf des Lebens hat und dass ein niedriges Geburtsgewicht zu erhöhtem Risiko für arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus, Fettstoffwechselstörungen und kardiovaskulären Erkrankungen führt (Axt 1998).

Definition der intrauterinen Wachstumsretardierung

Als wachstumsretardiert wird die Einschränkung des fetalen Wachstums bezeichnet, obwohl ein größeres Wachstumspotential zugrunde liegt. Ursachen für das Nichtausschöpfen des Wachstumspotentials können sowohl vom maternalen als auch fetalen Organismus ausgehen. Zudem stellen weiterhin Pathologien der Plazenta eine mögliche Ursache für IUGR dar. Ab wann von einer IUGR gesprochen wird, darüber gibt es unterschiedliche Auffassungen (Gardosi 1995, Wilcox 1993, Patterson 1987).

Durchgesetzt hat sich die Einteilung in der das Geburtsgewicht in ein Verhältnis zum Gestationsalter gesetzt wird. Dabei wird unterteilt in „small for gestational age“ (SGA), „appropriate for gestational age“ (AGA) und „large for gestational age“ (LGA), wobei die 10. und die 90. Perzentile als Schwellenwert für SGA bzw. LGA gesehen wird.

Einteilung der IUGR und Ursachen

Nach Winick et al. kann auf zellulärer Ebene das Wachstum in drei Phasen eingeteilt werden (Winick 1971). Dabei kommt es während der ersten 16 Wochen zum Wachstum indem die Zellen sich vermehren, dem sogenannten hyperplastischen Wachstum. Daran schließt sich eine Phase an, in der es sowohl zu einem Anwachsen der Zellzahl als auch einer Zunahme der Zellgröße, der Hypertrophie, kommt. Diese Phase erstreckt sich etwa von der 16.-32. SSW. Danach erfolgt das Wachstum fast ausschließlich über die Zunahme der Zellgröße. Angelehnt an diese drei Wachstumsphasen lässt sich auch die IUGR einteilen. Dem Typ I der IUGR ist eigen, dass es zu einer symmetrischen Wachstumsretardierung kommt. Kopf-Rumpf-Umfang und Körperlänge sind gleichermaßen reduziert. Ursachen sind hierfür häufig chromosomale Aberrationen, Stoffwechselerkrankungen, Missbildungen und konnatale Infektionen. Der Typ II der IUGR wird auch als intermediärer Typ beschrieben. Die klinische Manifestation variiert zwischen symmetrischer und asymmetrischer Retardierung. Hier sind hauptsächlich Mangelernährung oder niedriges Körpergewicht der Mutter, Drogen-, Nikotin- und Alkoholabusus ursächlich. Nach der 32. SSW führen meist Erkrankungen der Mutter oder der Plazenta, wie Präeklampsie oder Hypertonus zu einem reduzierten Wachstum. Es wird hier vom Typ III der IUGR gesprochen. Dieser ist gekennzeichnet durch eine asymmetrische Retardierung mit im Vergleich zum Kopfumfang deutlich reduzierten Rumpfumfang (Schneider 2006).

Abschnitt 2.2

Adiponektin

2.2.1 Biochemische Grundlagen

Fettgewebe als endokrines Organ

In den letzten Jahren wurden mehr und mehr die Funktionen des Fettgewebes untersucht. Dabei stellte sich heraus, dass neben der Funktion der Energiespeicherung das Fettgewebe als wichtiges aktives endokrines Organ fungiert. Es produziert die verschiedensten Hormone, Zytokine und andere Substanzen, die wichtige Aufgaben in der Regulation der metabolischen Homöostase, der Immunantwort und weiterer physiologischer Prozesse einnehmen, darunter $\text{TNF-}\alpha$, Leptin, Interleukin-6 und Adiponektin (Schäffler 2005). Von besonderem Interesse

ist dabei das Hormon Adiponektin. Im Gegensatz zu den meisten anderen Adipozytokinen sinkt die Serumkonzentration von Adiponektin mit zunehmender Fettmasse (Arita 1999). Die Wirkung von Adiponektin steht ebenfalls im Gegensatz zu den meisten anderen im Fettgewebe produzierten Adipozytokinen. Adiponektin wirkt insulinsensitivierend (Yamauchi 2001, Tschritter 2003), antiinflammatorisch und vasoprotektiv (Ouchi 2003).

Adiponektin - Struktur und Synthese

Erstmalig wurde 1995 von Scherer et al. ein Serumprotein beschrieben, das in 3T3-L1-Adipozyten gebildet wird (Scherer 1995). Dabei konnte festgestellt werden, dass ausdifferenzierte Adipozyten die mRNA dieses Hormons etwa 100-fach höher exprimierten als Präadipozyten. Wegen seiner Strukturähnlichkeit mit dem Komplementfaktor C1q und seines Gewichtes von 30 kDa wurde dieses Hormon Acrp30 genannt (Adipocyte complement-related protein of 30 kDa). Weitere Arbeitsgruppen konnten unabhängig sowohl in murinen als auch in humanen Adipozyten dieses Produkt nachweisen (Hu 1996, Maeda 1996, Arita 1999, Nakano 1996). Dabei variierten die Bezeichnungen, die heute akzeptierte Benennung lautet Adiponektin.

Adiponektin ist das Genprodukt des APM1-Gens (Adipose most abundant Gene Transcript 1) auf Chromosom 3q27 (Vasseur 2003, Maeda 1996). Vornehmlich findet die Expression im weißen und braunen Fettgewebe statt (Scherer 1995, Zhang 2002, Pajvani 2004). Dabei konnte gezeigt werden, dass die Regulationsmechanismen im weißen Fettgewebe zwischen dem viszeralen und subkutanen Fettgewebe variieren (Motoshima 2002). So ist für die Sekretion von Adiponektin der Einfluss von Insulin auf das viszerale Fettgewebe von größerer Bedeutung. Ebenso konnte gezeigt werden, dass eine Zunahme der Masse des viszeralen Fettgewebes zu einer stärkeren Verminderung des Adiponektinspiegels führt als der BMI (Bacha 2004). Doch auch in Leber (Yoda 2001, Kaser 2005), Muskelzellen (Staiger 2003, Delaigle 2004) und Osteoblasten (Berner 2004) konnte mRNA von Adiponektin nachgewiesen werden, der Hauptanteil des im Serum vorkommenden Proteins stammt aus dem Fettgewebe.

Das 244 Aminosäuren lange Hormon gliedert sich in eine Signalsequenz und einer Kollagen-Wiederholungsdomäne am N-Terminus sowie einer globulären Domäne am C-Terminus. Die globuläre Domäne weist Ähnlichkeiten mit dem Kollagen VIII und X sowie mit dem Komplementfaktor C1q auf (Maeda 1996). Zudem zeigt die Kristallstruktur des globulären Bereiches Homologien zum TNF- α , daher ist anzunehmen, dass zwischen den Analoga des

TNF- α und Adiponektin eine Verbindung besteht (Shapiro 1998). Drei Moleküle Adiponektin bilden durch eine enge Verknüpfung an der Kollagendomäne ein Homotrimer. In vivo stellt das Homotrimer die Grundstruktur für die dort vorhandenen Isoformen dar. Es werden die Isoformen ihrem Gewicht nach in drei Gruppen unterteilt. Zu der Low molecular weight form (LMW) gehören die bisher noch nicht im Organismus nachgewiesenen Monomere und oben beschriebenen Homotrimere. Zwei Homotrimere, die durch eine Disulfidbrücke am Cys22 zum Hexamer miteinander verbunden sind, werden als Medium molecular weight form (MMW) bezeichnet. Die Oligomere, die aus vier bis sechs Homotrimeren bestehen, gehören zu den High molecular weight form (HMW) (Shapiro 1998, Nakano 1996, Tsao 2003). Wichtig für die biologische Aktivität ist die posttranslative Hydroxylierung und Glykosilierung der Adiponektin Isoformern (Wang 2002). Die Synthese von Adiponektin wird durch den Transkriptionsfaktor PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor- γ) induziert und erfolgt in der Differenzierungsphase der Präadipozyten zu Adipozyten (Maeda 2001, Iwaki 2003). Dies erklärt auch die erhöhten Serumspiegel von Adiponektin nach Gabe von Thiazolidindionen, die als Agonisten des PPAR γ bekannt sind (Maeda 2001, Pajvani 2004). Außerdem konnten Park et al. zeigen, dass die Transkriptionspromotoren C/EBP β und NF-Y an den Genort des Adiponektins binden und in dessen Synthese regulatorisch eingreifen (Park 2004). Zusätzlich zu diesen Mechanismen der Adiponektininduktion wurde kürzlich die gesteigerte Synthese über den I κ B-Kinase- β -Inhibitor belegt. Dieser blockiert die Synthese von TNF- α , der zur Suppression von Adiponektin führt (Kamon 2004). Neben TNF- α führen auch erhöhte Serumspiegel von IL-6 (Fasshauer 2003), Endothelin-1 (Clarke 2003), Glukkokortikoide (Halleux 2001) sowie β -adrenerge Agonisten (Zhang 2002) zu einer Verminderung der Adiponektinsynthese. Mehrere Arbeiten konnten zeigen, dass Insulin zu einem Anstieg der Serumkonzentration von Adiponektin führt, Bogan et al. konnten dies durch eine vermehrte Exozytose von Adiponektin und GLUT-4 in Adipozyten erklären (Bogan 1999, Fasshauer 2002).

Adiponektinrezeptoren - Signaltransduktion und Wirkung

Drei Rezeptoren werden für Adiponektin in der Literatur beschrieben. Neben dem Adiponektinrezeptor 1 (AdipoR1) und dem Adiponektinrezeptor 2 (AdipoR2) gilt auch der T-Cadherin-Rezeptor als Bindungsort für Adiponektin. Allerdings scheint dieser Rezeptor für die metabolischen Schlüsselrollen weniger verantwortlich zu sein (Capeau 2007). Er konnte auf Endothelzellen und glatter Muskulatur identifiziert werden, dabei bindet er

ausschließlich die HMW-Isoformen und scheint daher eine wichtige Kontrollfunktion in der Angiogenese zu besitzen (Hug 2004, Whitehead 2006). AdipoR1 und AdipoR2 besitzen sieben Transmembrandomänen und unterscheiden sich strukturell und funktionell von G-Protein gekoppelten Rezeptoren. Sie konnten auf Hepatozyten, Skelettmuskulatur (Yamauchi 2003), Adipozyten (Fasshauer 2004), Makrophagen (Chinetti 2004), glatter Muskulatur (Shin 2008) und β -Zellen des Pankreas (Kharroubi 2003) nachgewiesen werden. Dabei überwiegen in der Leber die AdipoR2, während auf Zellen der Skelettmuskulatur AdipoR1 vermehrt vorkommen. Die Wirkungen des Adiponektins resultieren über die Aktivierung der AMPK (5' Adenosine monophosphate-activated protein kinase) und des Transkriptionsfaktors PPAR α . Beide Enzyme werden sowohl von AdipoR1 und AdipoR2 aktiviert, allerdings aktiviert AdipoR1 vermehrt die AMPK, während die Wirkung des Adiponektins über AdipoR2 auf eine verstärkte Aktivierung des PPAR α zurückzuführen ist. Über den AMPK-Weg erfolgt eine Reduktion der Glukoneogenese, indem die stimulierenden Enzyme der Glukoneogenese wie Glukose-6-Phosphatase und PEPCK (Phosphoenolpyruvate carboxykinase) gehemmt werden. Ebenso wird die Expression des Transkriptionsfaktors SREBP-1c (sterol regulatory element-binding protein 1c) inhibiert, das zu einer Reduktion der Fettsäuresynthese führt. Über die AMPK wird zudem die Fettsäureoxidation gesteigert und der Glukosetransport in den Muskel sowie in die Leber forciert. Der PPAR α -Weg steigert die Expression von Acetyl-CoA-Oxidase und Uncoupling-Protein-2, dies fördert die Fettsäureoxidation. Weiterhin wird durch die PPAR α die Expression der Glukokinase gesteigert und die Expression von TNF- α und MCP1 (monocyte chemotactic protein-1) gehemmt. Letztere Eigenschaft ist für die antiinflammatorische und vasoprotektive Wirkung des Adiponektins mitverantwortlich (Capeau 2007).

2.2.2 Der Einfluss von Adiponektin auf fetales Wachstum

Neben dem Einfluss auf den Energiestoffwechsel konnte gezeigt werden, dass die Wirkung des Adiponektins im fetalen Wachstum von Bedeutung ist. Lindsay et al. zeigten, dass die Konzentration von Adiponektin im Nabelschnurblut um ein Vielfaches höher liegt, als im Serum Erwachsener (Lindsay 2003). In weiteren Untersuchungen konnten verschiedene Arbeitsgruppen unabhängig voneinander eine positive Korrelation zwischen der Adiponektinkonzentration und dem Geburtsgewicht sowie dem Gestationsalter nachweisen (Sivan 2003, Tsai 2004, Chan 2004). Kinder, deren Geburtsgewicht zu niedrig für ihr Gestationsalter ist (SGA), zeigen signifikant niedrigere Adiponektinspiegel als Kinder mit einem

altersgemäßen Geburtsgewicht (AGA). Im Gegensatz zum erwachsenen Lebensalter, in dem hohe Adiponektinspiegel mit einem niedrigen Body-Mass-Index (BMI) assoziiert sind, findet sich in der Neugeborenenperiode ein hoher Adiponektinwert bei ebenfalls hohem BMI (Kotani 2004). Der Adiponektinspiegel ist in der Neonatalperiode am höchsten, im 2. Lebensjahr zeigen Kinder bereits eine deutliche Reduktion des Serumwertes (Iniguez 2004). All dies weist darauf hin, dass Adiponektin in der Wachstumsentwicklung des Feten eine wesentliche Funktion wahrnimmt.

Von besonderem Interesse ist der Ursprung für die stark erhöhten Serumwerte Neugeborener. Das weiße Fettgewebe konnte wie auch beim Erwachsenen als Expressionsort identifiziert werden. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass auch das braune Fettgewebe Adiponektin exprimiert (Viengchareun 2002, Fujimoto 2005). Ebenfalls wurde Adiponektin-mRNA in weiteren Zellen mesenchymalen Ursprungs erkannt (Corbetta, 2005). Neben der Expression von Adiponektin in Geweben unterschiedlichen Ursprungs, wird der Einfluss des mütterlichen Adiponektins auf den fetalen Organismus diskutiert. So belegte eine Arbeit, dass Mütter, die Kinder mit IUGR geboren hatten, nachweislich niedrigere Adiponektin-Serumwerte zeigten (Kyriakakou 2008, Mazaki-Tovi 2009).

Die intrauterine Stoffwechsellaage hat neben genetischen Faktoren einen wesentlichen Einfluss auf die Stoffwechsellaage des Feten in utero, aber auch auf den Stoffwechsel im weiteren Verlauf des Lebens. Dieses Phänomen wird als fetale Programmierung bezeichnet und beschreibt die intrauterine Prägung metabolischer Stoffwechselprozesse, die unter anderem für eine eventuelle lebenslang anhaltende Krankheitsdisposition verantwortlich gemacht wird. So zeigen sowohl SGA-geborene Kinder als auch LGA-geborene Kinder ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung eines metabolischen Syndroms im weiteren Verlauf des Lebens (McCane 1994). Adiponektin ist aufgrund der insulinsensitivierenden Wirkung für diesen Prozess von besonderem Interesse.

IGFBP-2

2.3.1 Das IGF/IGFBP-System

IGF als Vermittler des Wachstums

Die wachstumsstimulierende Wirkung des humanen Wachstumshormons (hGH) wird über das System der insulinähnlichen Wachstumsfaktoren („Insulin like growth factors“, IGF), deren Bindungsproteine, spezifische Proteasen und den entsprechenden Zellrezeptoren in der Peripherie vermittelt. Dass es einen Vermittler zwischen dem hGH und den peripheren Zellen gibt, wurde erstmalig von Salmon and Daughaday 1957 postuliert (Salmon 1957). Weitere Forschungen konnten mit Hilfe der Somatomedinhypothese diesen Wirkmechanismus bestätigen (Daughaday 1972, Hall 1970, Kogut 1963). Rinderknecht und Humpel konnten mittels Sequenzanalyse Homologien zwischen den Somatomedinen und dem Proinsulin feststellen. Außerdem erkannten sie die ähnlich funktionellen Eigenschaften von Somatomedinen und Insulin (Rinderknecht 1976, Rinderknecht 1978). Heute werden daher die Somatomedine international als IGF-I bzw. IGF-II bezeichnet. Beide Faktoren gehören zu einem komplexen Regulationssystem, das sowohl abhängig vom hGH und damit endokrin agiert als auch unabhängig vom hGH seine Funktionen im Zellwachstum und in der Zellproliferation wahrnimmt.

IGF-Rezeptoren

Die Wirkung der IGFs wird über hochaffine Rezeptoren vermittelt, die sich auf den Zellmembranen nahezu jeder Gewebeart befinden. Insgesamt sind vier Rezeptoren bekannt, an die IGF binden können. Neben dem spezifischen Typ-1-IGF-Rezeptor (IGF1R) und dem Mannose-6-Phosphat-IGF-2-Rezeptor besteht weiterhin eine Bindungsoption für den Insulinrezeptor und den Hybrid-Insulin/Typ-1-IGF-Rezeptor. Der IGF1R ist eng verwandt mit dem Insulinrezeptor. Nach Bindung eines IGF-Moleküls führt die Aktivierung der intrazellulären Tyrosinkinase zur Phosphorylierung einer Vielzahl von Proteinen. Die Differenzierung dieser Kaskade ist komplex und scheint nach aktuellem Kenntnisstand ähnlich dem Signaltransduktionsweg des Insulinrezeptors zu sein. Der IGF1R weist die stärkste Affinität zu IGF-I auf, gefolgt von IGF-II, er bindet ebenfalls Insulin, allerdings zu einem

wesentlich geringeren Anteil. Die meisten biologischen Wirkungen der IGF werden über den IGF1R vermittelt.

Der Typ-2-IGF-Rezeptor (IGF2R) ist identisch mit dem Mannose-6-Phosphat-IGF-2-Rezeptor. Die größte Affinität weist er zum IGF-II auf, zum IGF-I besteht eine deutlich geringere Bindung, Insulin bindet nicht am IGF2R. Die Bindung von IGF-II über den IGF2R führt zur Endozytose und Abbau von IGF-II. Es scheint, dass über den IGF2R die Homöostase im IGF-System aufrecht erhalten wird (Jones 1995).

Biologische Funktionen der IGF

Die IGF haben zusammengefasst anabole Wirkungen, die sich im Zellwachstum, in der Zelldifferenzierung, DNA-Synthese, Proteinsynthese und anderen Mechanismen manifestieren. Eine Übersicht der biologischen Funktionen stellt Abbildung 2.1 dar. In dieser Arbeit wird auf die wachstumsfördernden Effekte während der Fetalperiode näher eingegangen. Die für das Wachstum bedeutenden Effekte des IGF-I werden vornehmlich über hGH gesteuert. hGH wird in der Fetalperiode nur in geringen Mengen abgegeben und ist Stimulator der IGF-I-Synthese und Sekretion, so dass sich folglich im Serum Neugeborener niedrige Spiegel IGF-I finden. Im weiteren Verlauf des Lebens gewinnt die hGH/IGF-I-Achse an Bedeutung, insbesondere in der Pubertätsphase. Bis zu diesem Lebensabschnitt steigt der IGF-I-Spiegel und erreicht den Maximalwert, um dann wieder abzufallen. Die Werte des IGF-II verhalten sich anders. Hier finden sich die höchsten Werte im Nabelschnurblut. Postnatal kommt es zu einem Abfall der Konzentration, die ab dem 1. Lebensjahr auf konstantem Niveau bleibt. Sowohl IGF-I als auch IGF-II nehmen eine zentrale Stellung in der fetalen Entwicklung ein. In einem Tierversuch konnte die Arbeitsgruppe um Efstratiadis zeigen, dass Mäuse mit fehlendem IGF-I-Gen ein deutlich reduziertes Geburtsgewicht aufwiesen, während Mäuse mit fehlendem IGF-II-Gen zum einen ein reduziertes Geburtsgewicht und zum anderen eine deutliche Hypoplasie der Plazenta zeigten. Die Forscher entdeckten außerdem, dass für die biologischen Funktionen von IGF-I und IGF-II der IGF1R entscheidend ist. Denn *igf1r*-knockout-Mäuse starben postnatal an respiratorischer Insuffizienz, ebenso wie Mäuse, die weder IGF-I noch IGF-II exprimieren konnten. In einem weiteren Versuch konnte belegt werden, dass die Gewichtsretardierung besonders ausgeprägt ist, wenn IGF-II und der IGF1R fehlen. Wurden IGF-I und IGF1R nicht gebildet so waren die Mäuse ebenfalls wachstumsretardiert, allerdings nicht in so starker Ausprägung (Baker 1993, Liu 1993). Dies lässt darauf schließen, dass IGF-II in der Plazenta über einen weiteren Rezeptor agieren

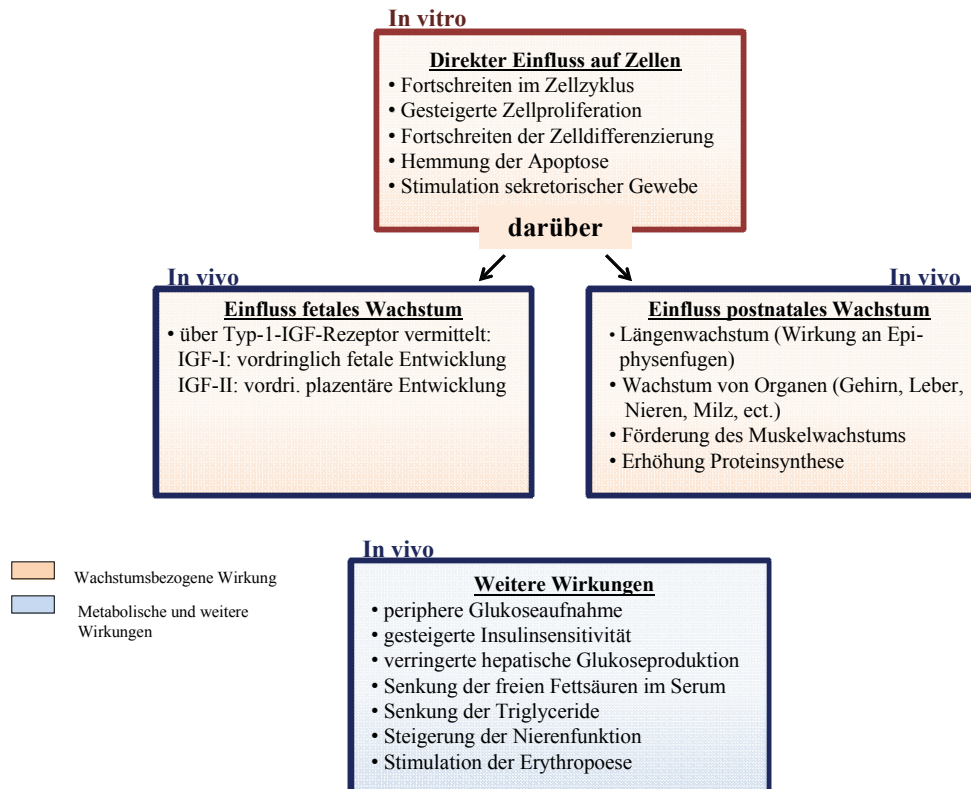


Abb. 2.1 – Überblick der biologischen Funktionen der IGF, aufgeteilt nach wachstumsbezogenen (Felder mit roter Schattierung) und metabolischen (Feld mit blauer Schattierung) Effekten. Die farbliche Umrandung der Felder gliedert die Ergebnisse nach ihrer Versuchseigenschaft. Blau sind in-vivo-Versuche dargestellt, während rot in-vitro-Versuche symbolisiert.

muss. Es stellte sich schließlich heraus, dass IGF-II am Insulinrezeptor A bindet und über diesen wirkt (Louvi 1997).

Aufgrund der niedrigen hGH-Konzentrationen im Neugeborenen sind die Effekte des IGF-Systems im Sinne para- und autokriner Prozesse zu sehen, während im weiteren Verlauf des Lebens die Hauptfunktion endokrin vermittelt wird.

Die IGFBP: Regulation der IGF vermittelten Wirkung

Die vielfältigen Aufgaben der IGF bedürfen einer diffizilen Regulation, die weitestgehend von einem System aus Bindungsproteinen, den sogenannten insulin-like growth factor binding proteins (IGFBP), wahrgenommen wird. Es existieren sechs Proteine, die spezifisch und mit einer hohen Affinität an IGF binden. Die IGFBP haben eine Größe von 216 bis 289 Aminosäuren und ihr Molekulargewicht liegt zwischen 24-53 kDa (Lamson 1991, Jones 1995,

Rajaram 1997, Shimasaki 1991).

Sie besitzen an ihren N- und C-terminalen Enden cysteinreiche Sequenzen, die entsprechend dem jeweiligen IGFBP an der Bindung mit IGF wesentlich beteiligt sind (Rosenzweig 2004). Die Bindung von IGFBP an IGF-I und IGF-II reguliert deren Bioverfügbarkeit am Zielgewebe. Der überwiegende Teil der IGF liegen im Plasma gebunden an IGFBP vor, meist als Tertiärkomplex, der aus IGF-I oder IGF-II in Verbindung mit IGFBP-3 und einer säurestabilen Untereinheit besteht. Dieser Tertiärkomplex erhöht nachweislich die Halbwertszeit der IGF, in dem es die Passage aus dem Intravasalraum verhindert. Die IGFBP können die Wirkung der IGF zudem sowohl verstärken als auch hemmen. Hierbei werden meist binäre Komplexe gebildet, die lediglich aus dem IGF und dem entsprechenden Bindungsprotein bestehen. Durch Bindung an z.B. nicht-phosphoryliertem IGFBP-1 kann die IGF-Wirkung verstärkt werden (Busby 1988). Auch mittels Adhäsion von IGFBP an Strukturen der Zelloberfläche in der Nähe des IGF-I-Rezeptors kann die Konzentration von IGF an entsprechenden Rezeptoren erhöht werden und macht die Möglichkeit einer Bindung von IGF an deren Rezeptoren wahrscheinlicher (Mohan 1995). Auf der anderen Seite wird IGF durch die Bindung an entsprechende IGFBP gehemmt. Dies schützt vor einem Überschießen der IGF-Wirkungen, beispielsweise vor Hypoglykämien, indem durch Bindung des IGF dessen insulinähnliche Wirkung gehemmt wird.

Außer der Regulation der IGF existieren auch IGF-unabhängige Mechanismen, über die IGFBP wirken. So konnte gezeigt werden, das IGFBP-1 die Zellmigration der humanen Trophoblastzellen stimuliert (Gleeson 2001) und in Brustkrebszellen zur Apoptose führt (Perks 1999). IGFBP-3 hemmt die DNA-Synthese in Hühnerfibroblasten und aktiviert ebenfalls die Apoptose. Zudem konnte gezeigt werden, dass IGFBP-3 und IGFBP-5 auf Zellkernebene agieren und dort in Interaktion mit Transkriptionsmodulatoren treten (Mohan 2002).

2.3.2 Biochemische Grundlagen des IGFBP-2

IGFBP-2 besteht aus 289 Aminosäuren, die auf dem langen Arm des Chromosoms 2 codiert sind und hat ein Molekulargewicht von 36 kDa (Binkert 1989, Zapf 1990). Die N- und C-terminalen Enden ähneln denen der anderen IGFBP und sind verbunden über eine Linkingdomäne. IGFBP-2 wird weder glykosyliert noch phosphoryliert. Es besitzt ein sogenanntes RGD-Motiv (Arg-Gly-Asp-Sequenz), welches in der Lage ist an $\alpha_5\beta_1$ -Integrinrezeptoren der Zelloberfläche zu binden (Schuett 2004). Außerdem verfügt IGFBP-2

über eine Heparin-Bindungsdomäne, über die eine Bindung an die extrazelluläre Matrix möglich ist (Arai 1996, Russo 1997).

Der Großteil des synthetisierten IGFBP-2 stammt aus der Leber, wobei die Expression ubiquitär möglich ist. IGFBP-2 hat nach IGFBP-3 die zweithöchste Konzentration aller IGFBP im menschlichen Blut. Dabei lassen sich die höchsten Werte in der Fetalperiode finden (Blum 1993, Carr 1995, Lindenberg-Kortleve 1997). Im Gegensatz zu IGFBP-1 unterliegt IGFBP-2 nicht einem circadianen Rhythmus. Zudem sind die Serumkonzentrationen geschlechtsunspezifisch.

IGFBP-2 lässt sich nicht nur im Serum finden. Aufgrund seiner Bindungseigenschaften konnte IGFBP-2 sowohl an der Zelloberfläche, als auch im Zytoplasma und innerhalb des Zellkerns nachgewiesen werden (Höflich 2004, Terrien 2005).

Die Regulation der IGFBP-2-Expression ist sehr komplex. Dabei wird sie je nach Zelltyp von verschiedenen Faktoren, insbesondere Wachstumsfaktoren und Hormonen, gesteuert. So wirkt bspw. IGF-I in Brustkrebszellen stimulierend auf die IGFBP-2-Expression (Adamo 1992), ebenso wie IGF-II die Expression in Leukämiezellen fördert (Wulbrand 2000). Insulin nimmt ebenfalls positiv Einfluss auf die Expression von IGFBP-2 in Nierenfibroblasten (Boisclair 1994). Weiterhin konnten Wolf et al. zeigen, dass während des Fastens, im Schock oder nach Trauma die Serumwerte von IGFBP-2 erhöht sind (Wolf 2000). Auch scheint es einen negativen Feedback-Mechanismus im hGH-IGF-System zu geben, denn zwischen dem hGH und IGFBP-2 besteht ein negativer Zusammenhang. So sind bei hohen hGH-Werten die IGFBP-2-Werte erniedrigt. Andererseits führt die IGF-I-Substitution, wie bspw. bei Laron-Zwergwuchs, zu einer Erhöhung der IGFBP-2-Serumwerten.

Die Wirkungen des IGFBP-2 sind vielschichtig und teilweise konträr. IGFBP-2 kann sowohl über IGF-abhängige als auch IGF-unabhängige Mechanismen wirken, dabei ist die Bindungsaffinität zu IGF-II höher als die zu IGF-I. Zudem führen Bindungen über die Heparin-Bindungsdomäne und der RGD-Sequenz zu weiteren Effekten. Die Bindung an IGF führt zum einen zu einer Reduktion der IGF-Wirkungen, indem die Bioaktivität vermindert wird. Weiterhin konkurriert freies IGFBP-2 mit dem IGF-Rezeptor und inhibiert auch darüber die IGF-Wirkungen. Andererseits schützt der IGFBP-2-IGF-Komplex die IGF vor proteolytischem Abbau und befördert die IGF zu den Rezeptoren. Die IGF-unabhängigen Wirkungen des IGFBP-2 werden über die Bindung der RGD-Sequenz und der Heparin-Bindungsdomäne an Integrine, Heparin, Glykosaminoglykane und Proteoglykane ermöglicht. Dabei kann, bspw. über die Adhäsionskinase, die p42/44 Mitogenaktivierte Proteinkinase (MAPK) oder weitere Signaltransduktionsketten, die Proliferation, Adhäsion,

Migration und Invasion IGF-unabhängig beeinflusst werden (Schuett 2004, Arai 1996, Russo 1997, Russo 2005, Conover 2003). IGFBP-2 dringt weiterhin in den Zellkern ein und kann dort die Expression verschiedenster Gene hochregulieren. Grundsätzlich ist anzumerken, dass in gesunden Zellen IGFBP-2 als Wachstumshemmer fungiert, zum einen mittels der IGF-abhängigen Wirkungen, aber auch durch die perinukleäre Interaktion mit dem Zellzyklusinhibitor p21 (Terrien 2005, Kuang 2006). So konnten Höflich et al in Mäuselinien, die auf niedriges Körpergewicht gezüchtet wurden, erhöhte IGFBP-2-Serumkonzentrationen und erhöhte mRNA-Werte nachweisen. Außerdem zeigten IGFBP-2 transgene Mäuse ein deutlich verringertes Körperwachstum. Auch an humanen Zellen konnte dieser negative Wachstumseffekt bestätigt werden. In Nierenfibroblasten konnte eine Wachstumshemmung mit der Überexpression von IGFBP-2 in Zusammenhang gebracht werden, diese Wachstumshemmung ließ sich durch die Gabe von IGF-I aufheben (Höflich 2004). Paradoxerweise ist aber bei malignem Wachstum keine Erniedrigung der IGFBP-2 beschrieben worden, es existiert vielmehr eine positive Korrelation zwischen IGFBP-2 und unkontrolliertem Wachstum (Frommer 2006). Hierbei führen Interaktionen zwischen der RGD-Sequenz bzw. der Heparin-Bindungsdomäne und den Molekülen der extrazellulären Matrix zu einer verstärkten Migration und Invasion von Tumorzellen. Außerdem werden durch IGFBP-2 eine Hochregulation von Genen wie der Matrix Metallprotease 2 (MMP2) in Tumorzellen verursacht. Die MMP2 degradiert Bestandteile der extrazellulären Matrix, reguliert wiederum die Expression von Wachstumshormonen und Rezeptoren von Zelladhäsionsmolekülen, wodurch Tumorzellen eine erleichterte Invasion, Migration und Proliferation erzeugen (Wang 2003, Chirco 2006).

2.3.3 Der Einfluss von IGFBP-2 auf fetales Wachstum

Untersuchungen im Nabelschnurblut zeigen, dass die IGFBP-2-Werte Neugeborener verglichen mit Serum Erwachsener in bis zu vierfach höherer Konzentration vorkommen (Juul 1995, Lassare 1991). Hauptsyntheseort ist die fetale Leber. Allerdings konnte IGFBP-2-mRNA in allen Geweben nachgewiesen werden. Ab der 9. Schwangerschaftswoche kommt es kontinuierlich zu einer Erhöhung der IGFBP-2-Konzentration in der Amnionflüssigkeit (Chard 1994). Interessant ist die Tatsache, dass IGFBP-2 in der Fetalperiode, der Zeit mit dem höchsten Wachstumspotential, die höchste Konzentration aufweist, obwohl es als negativer Wachstumsfaktor bekannt ist, also hemmend in Wachstumsprozesse eingreift. Neben den fetalen Geweben konnte auch die Plazenta als Syntheseort von IGFBP-2 identi-

fiziert werden. Insbesondere der mütterliche Anteil, die Dezidua, exprimiert IGFBP-2 (Han 1996). Hill et al. zeigten allerdings, dass auch der fetale Anteil an der IGFBP-2-Expression beteiligt ist. Weiterhin weist eine Untersuchung im Tierexperiment daraufhin, dass der Uterus nach Implantation des Keims ebenfalls IGFBP-2 exprimiert (Green 1999). Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass IGFBP-2 nicht nur im fetalen Organismus von Wichtigkeit ist, sondern, dass es sich an der Plazentaentwicklung ebenfalls beteiligt.

Im Bezug über den Einfluss von IGFBP-2 auf die intrauterine Wachstumsretardierung ist nur wenig bekannt. Lassare et al. konnten allerdings zeigen, dass IGFBP-2 wie auch IGFBP-1 im Serum wachstumsretardierter Feten deutlich erhöht sind (Lassare 1991). Auch in der Amnionflüssigkeit wachstumsretardierter Feten waren höhere IGFBP-2-Konzentrationen (Carter 2005). Aber nicht nur im fetalen Serum lassen sich diese Auffälligkeiten finden. Frauen, die an einer Präeklampsie litten und dadurch bedingt Kinder mit intrauteriner Wachstumsretardierung zur Welt brachten, wiesen in ihrem Serum ebenso erhöhte IGFBP-2-Werte. Desweiteren waren die IGFBP-2-Serumwerte bei Frauen erhöht, die einen pathologischen Dopplerfluss zeigten (Axt 1998). Die bisher bekannte wachstumshemmende Funktion des IGFBP-2 scheint auch im Pathomechanismus der Wachstumsretardierung zum Tragen zu kommen und ist daher wahrscheinlich ein verantwortlicher Faktor für IUGR. Über welche Mechanismen IGFBP-2 zum verminderten intrauterinen Wachstum führt, ist bisher nicht geklärt.

Ziele der Arbeit

Die Fetalperiode stellt die Zeit mit dem größten Wachstumspotential dar. Wichtige Einflussfaktoren für das fetale Wachstum sind die Nährstoffbereitstellung sowie das System der IGF. Weiterhin zeigen Arbeiten der letzten Zeit, dass Adiponektin und IGFBP-2 in erhöhter Konzentration im fetalen Organismus vorkommen und im Zusammenhang mit dem intrauterinen Wachstum stehen. Dabei nehmen sie konträre Stellungen ein. Während Adiponektin vermutlich positiv auf das Wachstum wirkt, scheinen die Wirkungen des IGFBP-2 hemmender Natur zu sein. Woher die erhöhten Konzentrationen von Adiponektin und IGFBP-2 stammen ist noch nicht endgültig geklärt. Außerdem steht offen, welche Stellungen das Adiponektin und IGFBP-2 im Wachstum des Feten einnehmen und ob ein Zusammenhang zwischen diesen Proteinen besteht.

In dieser Arbeit wird nach eigenem Kenntnisstand erstmalig das Zusammenspiel von Adiponektin und IGFBP-2 in allen drei Kompartimenten der materno-plazento-fetalen Einheit betrachtet. Dazu wurden mütterliches Serum, Nabelschnurblut bei Geburt und Plazentagewebe entnommen und mittels Polymerasekettenreaktion die mRNA-Expression in Plazenta und mononukleäre Zellen (MNC) sowie anhand des ELISA-Verfahrens die Serumkonzentrationen bestimmt.

Die klinischen Parameter werden mit den mütterlichen und fetalen Serumkonzentrationen in Hinblick auf wachstumsbeeinflussende Faktoren geprüft. Dabei soll herausgearbeitet werden, welchen Einfluss diese Parameter auf die Serumkonzentrationen von Adiponektin und IGFBP-2 im mütterlichen und fetalen Organismus haben und ob dadurch Auswirkungen auf das fetale Wachstum auftreten.

Um den Ursprungsort für die erhöhten Serumkonzentrationen von Adiponektin ausfindig zu machen, wird in dieser Arbeit das Augenmerk auf die Plazenta, als wichtigstes Ernährungs- und Verbindungsorgan, und auf mononukleäre Zellen, als Zellen mit gleichem Ursprung wie das Fettgewebe, gelegt. Die mRNA-Expression in Plazenta und MNC wird bestimmt und mit klinischen sowie anthropometrischen Parametern verglichen. Ebenso wird die Expression von IGFBP-2 in Plazenten und MNC betrachtet und es wird anhand der Korrelationsanalyse untersucht, ob eine Wechselbeziehung zwischen Adiponektin und IGFBP-2 auf Expressionsebene besteht. Außerdem wird analysiert, inwieweit die Serumkonzentrationen Einfluss auf die mRNA-Expression in Plazenta und MNC nehmen.

Mithilfe dieser Betrachtungen soll geklärt werden,

ob Adiponektin im mütterlichen und fetalen Serum in direkter Verbindung zum fetalen Wachstum steht,

welche klinischen Parameter Einfluss auf die IGFBP-2- und Adiponektinkonzentrationen nehmen,

welches Kompartiment der materno-plazento-fetalen Einheit zu den erhöhten fetalen Adiponektinkonzentrationen beiträgt

und inwieweit die wachstumshemmende Wirkung des IGFBP-2 sich auf die Adiponektinkonzentration bzw. -expression auswirkt und über diesen Weg Einfluss auf das fetale Wachstum nimmt.

Methodik

Abschnitt 4.1

Materialliste

Material	Firma
Test Kits	
RNeasy [®] Micro Kit	QIAGEN GmbH
RNeasy [®] Mini Kit	QIAGEN GmbH
Omniscript [®] RT Kit	QIAGEN GmbH
IGFBP-2 ELISA (inkl. Streptavidin-POD-Konjugat)	Mediagnost GmbH
Adiponektin ELISA (inkl. Streptavidin-POD-Konjugat)	Mediagnost GmbH
Chemikalien und Verbrauchsmaterial	
TRIzol [®]	Invitrogen GmbH
TaqMan [®] Primer-Sonden-Mix	Applied Biosystems GmbH
TaqMan [®] Universal-Master-Mix	Applied Biosystems GmbH
Micro Amp optical 96 Well	Applied Biosystems GmbH
Ficoll-Paque	GE Healthcare
RPMI-Medium	Biochrom AG
DMSO	Wak-Chemie
Kälberserum	PAA Laboratories GmbH
Geräte und Computer-Programme	
Omni-Tip Tissue Homogenisator	Omni International
TaqMan [®] PCR	Applied Biosystems GmbH
SLT Spectral	tecan GmbH
Ultraspec [®] III Spektralphotometer	Pharmacia Biosystems GmbH
ABI Prism [®] Software	Applied Biosystems GmbH
7900 HT Sequence Detection System	

Beschreibung des Gesamtmaterials

Der Inhalt dieser Arbeit betrachtet die beiden Wachstumsparameter Adiponektin und IGFBP-2 und deren Einfluss auf die Wachstumsregulation in der Fetalperiode. Dabei kommt in dieser Betrachtung der materno-plazento-fetalen Einheit eine besondere Bedeutung zu. Zur Untersuchung wurde deshalb Material von Mutter-Kind-Paaren und deren Plazenten ausgewählt, die in die Universitätsfrauenklinik Jena zur Entbindung kamen. Ein positives Votum der Ethikkommission liegt vor, siehe dazu Anhang.

Untersucht werden Blutproben von 22 Müttern und 23 Neugeborenen sowie Gewebeproben aus 22 Plazenten. Das Material der Neugeborenen wurde ausschließlich aus Nabelschnurblut gewonnen. Den Müttern wurde jeweils eine 9 ml Serummonovette und eine 3 ml Zitratmonovette Blut abgenommen, während aus der Nabelschnur zwei 9 ml Serummonovetten und eine 3 ml Zitratmonovette Blut entnommen wurde. Dabei konnten von 22 Müttern 19 Serum- und 20 Zitratblutproben und aus dem Nabelschnurblut der 23 Neugeborenen 20 Serum- und 23 Zitratproben gewonnen werden. Als Einschlusskriterien gelten eine komplikationslose Schwangerschaft sowie eine regelrechte intrauterine Entwicklung des Feten. Um die Zusammenhänge zwischen den untersuchten Materialien untereinander und den klinischen Parametern zu beschreiben, wurde mittels eines Dokumentationsbogens eine Erhebung klinischer Daten durchgeführt. Außerdem wurden über einen pseudonymisierten Fragebogen weitere klinische und soziologische Informationen eingeholt.

Tab. 4.1 – Maternale Daten des Dokumentationsbogens.

Geburtsdatum der Mutter	CrP der Mutter
Anzahl der Schwangerschaften	Zigarettenkonsum pro Tag
Körpergröße	Glukokortikoidtherapie
Gewicht zur Geburt	Diabetes mellitus
Blutdruck	HELLP
Hämoglobinwert	Hämatokrit
Thrombozytenzahl	Andere Erkrankungen

4.2.1 Erhebung mütterlicher Daten

Im klinischen Dokumentationsbogen werden die in Tabelle 3.1 aufgeführten Daten festgehalten. Hier sind neben den allgemeinen klinischen Größen wie Alter, Gewicht und Vorerkrankungen insbesondere die peripartalen Parameter wie Hämoglobin, Hämatokrit, Thrombozytenzahl, CrP, Blutdruck als auch die Einnahme von Medikamenten bzw. der Konsum von Alkohol und/oder Nikotin von besonderem Interesse. Mittels pseudonymisierten Fragebogen werden neben Daten zu vorherigen Schwangerschaften und zur Sozialanamnese auch die schon im Dokumentationsbogen erfassten Angaben über Alkohol- und Nikotinkonsum sowie über Medikamenteneinnahme wiederholt abgefragt. In Tabelle 4.1 und 4.2 sind die Darstellungen der Daten angegeben.

Tab. 4.2 – Daten des pseudonymisierten Fragebogens.

Gewicht vor Schwangerschaft	Medikamenteneinnahme
Alter der Mutter	Einnahme von Drogen
Körpergröße	Staatsangehörigkeit
Anzahl der Schwangerschaften	Wohnort (Ortsgröße)
Anzahl der Spontangeburt	Beschäftigung vor Mutterschutz
Anzahl der Sectiones casarea	Schulabschluss
Anzahl der Fehlgeburten	Berufsabschluss
Anzahl der Geschwister	Alter der Geschwister
Anzahl der Zigaretten pro Tag während der Schwangerschaft	
Art des konsumierten Alkohols während der Schwangerschaft	
Anzahl der Schwangerschaftsabbrüche	
Angaben über den Geburtsort der Mutter	

4.2.2 Erhebung kindlicher Daten

Die Daten der Neugeborenen werden ausschließlich über den klinischen Dokumentationsbogen eingeholt. Hier ist das Augenmerk vornehmlich auf Parameter gelegt, die das Wachstum, die Entwicklung und das Reifealter beschreiben. In Tabelle 4.3 werden die erhobenen Daten aufgeführt.

Tab. 4.3 – Daten zum Neugeborenen.

Geburtsdatum	Kopfumfang
Uhrzeit der Geburt	Biparietaler Durchmesser
Geschlecht	Brustumfang
Reifealter	Geburtsmodus
APGAR 1, 5, 10	Kopflage
Geburtsgewicht	Einlings-, Mehrlingsgeburt
Körperlänge	

4.2.3 Eigenschaften der untersuchten Plazenten

Angaben über die untersuchten Plazenten werden ebenfalls über den klinischen Dokumentationsbogen festgehalten (Tabelle 4.4).

Tab. 4.4 – Plazentare Daten.

Plazentagewicht	Nabelschnurinsertion
Plazentamaß 1	Pathomorphologien
Plazentamaß 2	NA-pH
Nabelschnurlänge	NV-pH

Abschnitt 4.3

Aufarbeitung des gewonnenen Materials

4.3.1 Mütterliches und fetales Serum

Die Blutentnahme der mütterlichen Proben erfolgte im Rahmen einer medizinisch indizierten Diagnostik unmittelbar vor bzw. innerhalb von 24 Stunden nach der Geburt. Lediglich bei zwei Patientinnen wurden die Proben zwei Tage nach Geburt ihres Kindes entnommen. Die Aufarbeitung der Proben erfolgte im Hämatologisch-Onkologischen-Labor der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Friedrich-Schiller-Universität Jena. Dabei wurden die Proben der Serummonovetten für fünf Minuten bei 1800 UpM zentrifugiert und das eigentliche Serum bei -70 °C kryokonserviert. Ebenso wurde mit den Serumproben des Nabelschnurblutes verfahren. Die Gewinnung von Nabelschnurblut erfolgte unmittelbar

nach der Geburt aus der mit der Plazenta verbundenen Nabelschnur.

4.3.2 Mütterliche und fetale Lymphozyten

Um die Genexpression von Adiponektin und IGFBP-2 in mononukleären Zellen zu untersuchen, wurden die Zitratblutproben ebenfalls im Hämatologisch-Onkologischen-Labor der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Friedrich-Schiller-Universität Jena einer sogenannten Ficoll-Paque-Dichtezentrifugation unterzogen. Bei diesem Verfahren wird zur Trennung der Blutbestandteile ein Ficoll-Paque verwendet. Das Blut wird auf den Ficoll-Paque gegeben, mittels Zentrifugation teilen sich Blutbestandteile in drei Phasen.

Die erste Phase ist rötlich und beinhaltet Erythrozyten und Granulozyten, sie befindet sich unterhalb des Ficoll-Paques. Über dem Paque haben sich Monozyten und Lymphozyten gesammelt. Diese Phase wird als Interphase bezeichnet. Die dritte und oberste Phase bildet das Plasma. Die MNC aus dem Interphasenring werden mittels Pipette abgesaugt und in Röhrchen mit RPMI-Medium gegeben und anschließend zentrifugiert. Das entstandene Zellpellet wird daraufhin in frischem RPMI-Medium resuspendiert. Es folgt die Bestimmung der Zellzahl. Nach Ansetzen einer Einfrierlösung, bestehend aus 5 % DMSO, 20 % Kälberserum und 75 % RPMI-Medium, werden die Proben mittels computergesteuerter Einfrierautomatik auf -100 °C eingefroren und anschließend bei -160 °C kryokonserviert.

4.3.3 Plazentagewebe

Unmittelbar nach der Geburt erfolgte die Gewinnung einer Gewebeprobe aus der Plazenta. Dazu wurde ein 2×2 cm großer Gewebeblock entnommen. Es war darauf zu achten, dass dieser alle Schichten der Plazenta beinhaltete und aus einem morphologisch unauffälligen Teil der Plazenta gewonnen wurde. Nekrosen, Verkalkungen oder beschädigte Bereiche wurden gemieden. Der Gewebeblock wurde in 0,9%iger NaCl-Lösung geschwenkt und somit vom Blut gereinigt. Anschließend wurde das Stück in flüssigem Stickstoff schockgefroren und bei -80 °C gelagert.

Untersuchungsmethoden

4.4.1 Bestimmung der Serumkonzentration mittels ELISA

Zur Bestimmung der IGFBP-2- sowie der Adiponektinkonzentrationen im mütterlichen Serum und im Nabelschnurblut wurde der enzymgekoppelte Immunabsorptionstest (ELISA, engl. Enzyme Linked Immunosorbent Assay) verwendet. Es handelt sich dabei um einen sogenannten Doppel-Antikörper-Sandwich-ELISA, bei dem es durch eine enzymatische Reaktion zu einem Farbumschlag kommt. Mithilfe dieses Farbsignals ist eine Aussage über die Konzentration der interessierenden Substanzen möglich.

Eine Mikrotiterplatte, an der der erste Antikörper gekoppelt ist, wird mit den Serumproben beladen. Dabei kommt es zur Bindung von IGFBP-2 bzw. Adiponektin mit dem festen Antikörper und damit zur Immobilisierung. Nach einigen Waschschritten wird der anti-Antikörper in die Proben gegeben. Dieser bindet ebenfalls an das zu untersuchende Protein (Antigen). In der applizierten anti-Antikörperlösung ist ein Streptavidin-Peroxidase-Enzymkonjugat (POD) enthalten. An der Wand des Reaktionsgefäßes befindet sich daher nun ein Antikörper-Antigen-Antikörper-Enzym-Komplex. Nach einem weiteren Waschschritt kann es durch Zugabe des Substrats H_2O_2 -Tetramethylbenzidin zur enzymkatalysierten Farbreaktion kommen. Dabei ist die Intensität des Farbumschlags abhängig von der Antigenkonzentration, denn nur das an diesen Komplex gebundene Enzym bleibt nach den Waschungen in der Probe und kann das Substrat umwandeln.

Bestimmung des IGFBP-2 im mütterlichen und fetalen Serum

Die Serumproben wurden im Verhältnis von jeweils 1:21 verdünnt. Dazu werden 15 μl Serum in 300 μl Verdünnungspuffer gegeben. Es erfolgt eine Doppelbestimmung, so dass $2 \times 100 \mu\text{l}$ in den Assay eingesetzt werden. Die Konzentrationsbestimmung erfolgte anhand einer Kalibrierungskurve. Dazu werden vom Hersteller Standardlösungen rekombinanter IGFBP-2 sowie eine Probe humanes Kontrollserum mitgeliefert. Die Konzentrationen der Standards betragen 1 ng/ml, 10 ng/ml, 20 ng/ml, 40 ng/ml und 80 ng/ml. Die Standards, der Leerwert und die Proben werden in die Wells der Mikrotiterplatte gegeben und für 60 Minuten unter Schütteln ($\geq 350 \text{ UpM}$) bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend werden die Proben $3 \times$ mit 250 μl Waschpuffer gespült und mit 100 μl Antikörper-POD-Konjugat

beladen. Es erfolgt eine 30-minütige Inkubation unter Schütteln (≥ 350 UpM). Nach dem Waschen der Proben, wie oben beschrieben, werden 100 μ l Substratlösung in die Röhrchen pipettiert und diese 15 Minuten bei Dunkelheit inkubiert. Nach Ablauf der Inkubationszeit werden 100 μ l Stopplösung, bestehend aus 0,2 M Schwefelsäure, in die Proben gegeben und diese unverzüglich bei 450 nm und 620 nm mit dem Photometer (SLT Spectral) gemessen.

Testcharakteristik:

Der Enzymimmunoassay für IGFBP-2 verwendet ein spezifisches hochaffines polyklonales Antiserum sowie einen spezifischen monoklonalen Antikörper. Die Erkennung von IGFBP-2 wird von erhöhten IGF-I und IGF-II Werten nicht beeinflusst. Eine Kreuzreaktion mit verwandten Molekülen wie z.B. IGFBP-3 besteht nicht. Die Sensitivität liegt bei 0,2 ng/ml. Die Variationskoeffizienten des Inter- und Intraassays liegen unter 10 %.

Bestimmung des Adiponektins im mütterlichen und fetalen Serum

Für die Reaktion wird eine 1:500 Verdünnung der Serumproben angesetzt, es erfolgte eine Doppelbestimmung mit jeweils 100 μ l Serumlösung. Die Kalibrierungskurve wird mithilfe der mitgelieferten Standards nativem Adiponektins angefertigt. Die Konzentrationen der Standards betragen 1 ng/ml, 10 ng/ml, 30 ng/ml, 70 ng/ml und 100 ng/ml. Die Durchführung des Assays erfolgt analog der oben beschriebenen Vorschrift.

Testcharakteristik:

Die hier verwendeten Antikörper sind gegenüber Adiponektin spezifisch und hochaffin. Die Sensitivität liegt bei $<0,6$ ng/ml. Der Variationskoeffizient des Interassays liegt bei $<6,7$ %, der des Intraassays bei $<4,7$ %.

4.4.2 Bestimmung der Genexpression mittels PCR

Die Polymerasekettenreaktion (PCR, engl. polymerase chain reaction) ist ein etabliertes Verfahren zum Nachweis bekannter Gene in sehr geringer Konzentration und wurde erstmals von K. Mullis und F. Faloona, 1987 beschrieben (Mullis 1987). Das Prinzip besteht in einer exponentiellen Vervielfältigung eines von Primern flankierten Genomabschnitts. In der vorliegenden Arbeit wird die Genexpression von Adiponektin und IGFBP-2 in unterschiedlichem Gewebe untersucht. Da exprimierte Genabschnitte in messenger-RNA (mRNA) umgeschrieben werden, ist als erster Schritt die Isolierung der totalen RNA aus dem untersuchten Gewebe notwendig. Nach einer Betrachtung der Quantität und Reinheit

der RNA muss für die PCR mRNA in komplementäre DNA (cDNA) umgeschrieben werden. Dieser Schritt wird als cDNA-Erststrangsynthese bezeichnet. Danach ist eine Amplifikation der cDNA mittels PCR möglich. Für eine quantitative Aussage über die Genexpression, ist eine spezielle Ausführung der PCR, die sogenannte Realtime-PCR, besonders geeignet.

RNA-Isolation

Die Isolierung von RNA und deren Quantifizierung erfordert eine spezielle Handhabung, um Kontaminationen mit RNasen zu verhindern. Daher werden für die Isolierung nur RNase-freie Lösungen und Materialien verwendet. Zur Durchführung der Isolation wurde das RNeasy® Mini Kit verwendet und erfolgte nach Protokoll laut Handbuch (RNeasy® Mini/Micro Handbuch 4/2002 und 4/2003).

Der regelrechte Aufschluss und die Homogenisierung des zu untersuchenden Materials sind entscheidende Prozesse zur Gewinnung von hochwertiger RNA. Dabei ist die Gewebeart entscheidend für die Auswahl des entsprechenden Verfahrens. In der hier beschriebenen Arbeit wird zum einen RNA aus Plazentagewebe und zum anderen RNA aus MNC gewonnen. Dabei wird das gefrorene Gewebe der Plazenta mittels Omni-Tip-Homogenisator aufgeschlossen und dabei zugleich im Lysepuffer TRIzol® homogenisiert.

Das Aufschließen der MNC erfolgt mittels RLT-Puffer, wobei dem Lysepuffer 10 µl/ml 14,3 mM β-Mercaptoethanol zugeführt wird, um eine Degradation der RNA zu verhindern. Zur Homogenisierung des Zelllysats wurden hier die von Qiagen entwickelten Shredder (QIAshredder Spinsäule®) benutzt. Die vorher in RLT-Puffer lysierten Zellen werden dabei auf die Shredder-Säule gegeben und für zwei Minuten bei 14.000 UpM zentrifugiert. Die sich anschließenden Schritte erfolgten nach Herstellerprotokoll. Im Anschluss an die RNA-Isolation folgt direkt die Messung der Konzentration und Qualität der gewonnenen RNA. Dafür werden 4 µl RNA in ein weiteres RNase-freies Reaktionsgefäß überführt und mit 76 µl RNase-freiem Wasser verdünnt. Das übrige Eluat wird bis zur weiteren Bearbeitung bei -20 °C gelagert.

RNA-Analyse

Sowohl die Konzentration als auch die Reinheit der gewonnenen RNA lässt sich mittels Photometer bestimmen. Zur Bestimmung der Konzentration eignet sich die Absorption bei einer Wellenlänge von 260 nm.

Dafür wurde eine 1:20 Verdünnung der RNA in RNase-freiem Wasser gegen einen Leerwert, das heißt reines RNase-freies Wasser, bei 260 nm gemessen (Ultraspec[®] III Spektralphotometer). Die Konzentration der Proben errechnet sich aus deren Absorption im Verhältnis zur Absorption der Nullprobe. Es ergibt sich die Konzentration der totalen RNA in der Einheit ng/μl. Zur Überprüfung der Qualität der RNA kann ebenfalls eine spektralphotometrische Messung durchgeführt werden. Hierzu wurde die RNA mit RNase-freiem Wasser 1:20 verdünnt und die Extinktion bei Wellenlängen von 260 nm und 280 nm gemessen. Der Quotient der Messung dient als Maß für die Reinheit der RNA. Dabei sprechen Werte zwischen 1,8 und 2,1 für eine reine RNA-Probe.

cDNA-Erststrangsynthese

Das Umschreiben von RNA zu cDNA erfolgt durch das Enzym reverse Transcriptase, das herkömmlich aus Retroviren gewonnen wird. In dieser Arbeit wird die Omniscript Reverse Transcriptase (Omniscript[®] RT Kit) verwendet. Diese stammt aus *E. coli* und weist verschiedene enzymatische Aktivitäten auf. Zum einen eine RNA-abhängige DNA-Polymerase, die eigentliche reverse Transcriptase und zum anderen die RNase-H. Diese stellt eine RNA:DNA-hybridabhängige Exoribonuklease dar, die RNA aus DNA/RNA-Hybridsträngen abbaut, aber keinen Effekt auf freie RNA hat. Durch diese zusätzliche enzymatische Wirkung wird die Sensitivität der anschließenden PCR verbessert.

Die cDNA wurde unter Verwendung von Random-Hexamer-Primern aus 0,5 μg RNA in einem Reaktionsvolumen von 20 μl synthetisiert. Mithilfe der Omniscript Reverse Transkriptase wurde die isolierte mRNA in cDNA umgeschrieben. Das vollständige Pipettierschema ist in Tabelle 4.5 abgebildet. Diese Proben werden bei 37°C für 60 Minuten inkubiert. Währenddessen erfolgt die reverse Transkription.

Tab. 4.5 – Pipettierschema für die reverse Transkription mit Omniscript Reverse Transcriptase.

Komponente	Volumen
Totale RNA 0,5 µg	13 µl
10× RT-Puffer	2 µl
dNTP-Mix (5 mM von jedem dNTP)	2 µl
Random-Hexamer-Primer	2 µl
RNase-Inhibitor	0,25 µl
Omniscript Reverse Transcriptase	1 µl
Gesamt	20,25 µl

Realtime-PCR (TaqMan®-PCR)

Die Methode der TaqMan® Realtime-PCR ermöglicht neben der Vervielfältigung kleinster Mengen DNA bzw. RNA auch quantitative Aussagen über das PCR-Produkt. Die besondere Eigenschaft dieses PCR-Verfahrens liegt in der Möglichkeit die exponentielle Vervielfältigung der DNA während der Reaktion aufzuzeichnen. Mittels einer mit Farbstoff markierten fluorogenen Sonde kann ein Signal erzeugt werden, das Rückschlüsse über die DNA-Menge erlaubt. Die Sonde besteht aus einem genomspezifischen Oligonukleotid an dessen 5'-Ende ein fluoreszenter Reporterfarbstoff (G-FAM, ein Fluoreszeinderivat) und am 3'-Ende ein sogenannter Quencherfarbstoff (MGB-Sonde) gebunden ist. Die Sonde bindet während der PCR-Hybridisierung mit den Primern an den Matrizenstrang. Das Enzym AmpliTaq Polymerase beginnt nach der Hybridisierung den komplementären Strang zu synthetisieren. Dabei wird die 5'-Exonukleaseaktivität dieses Enzyms bei der TaqMan® PCR ausgenutzt. Während der DNA-Strang-Synthese trifft die AmpliTaq Polymerase auf die gebundene Sonde und verdrängt diese beginnend am 5'-Ende von der DNA. Es entsteht eine Y-Struktur, wobei das 5'-Ende der Sonde mit dem Reporterfarbstoff von der DNA gelöst, das 3'-Ende jedoch noch gebunden ist. Diese Struktur aktiviert die Exonuklease der AmpliTaq Polymerase und die Sonde wird geschnitten. Das Fluoreszenzsignal der Sonde wird durch die räumliche Nähe von Reporterfarbstoff und Quencherfarbstoff unterdrückt, dieses Phänomen wird auch als Fluoreszenz Resonanz Energie Transfer (FRET) bezeichnet. Wird die Sonde, wie oben beschrieben, geschnitten, entfällt diese Blockierung und der Reporterfarbstoff gibt bei Anregung mit Licht von einer Wellenlänge mit 488 nm ein Fluoreszenzsignal ab. Anhand der Signalstärke kann die Menge an Ausgangs-DNA bestimmt werden. Die in dieser Arbeit

verwendeten Primer und Sonden für die Gene Adiponektin (Nr. Hs 00605917) und IGFBP-2 (Nr. Hs 00167151) sowie für das housekeeping Gen β 2-Mikroglobulin (Nr. Hs 00187842) wurden von der Firma Applied Biosystems GmbH entworfen und zur Verfügung gestellt. Zu Beginn der PCR wird der TaqMan Basismixes hergestellt (Tabelle 4.6). Dieser Basismix besteht zum einen aus dem TaqMan[®] Universal-Master-Mix (Tabelle 4.7), in dem die einzelnen Nukleinsäuren und die AmpliTaq Gold Polymerase enthalten sind, und zum anderen aus dem TaqMan[®] Primer-Sonden-Mix.

Tab. 4.6 – Pipettierschema des Basismixes für die TaqMan[®] PCR.

Komponente	Volumen
TaqMan [®] Universal-Master-Mix	25 μ l
TaqMan [®] Primer-Sonden-Mix	1,25 μ l
Aqua ad injectabilia	23,75 μ l
Gesamt	25 μl

Da eine Doppelbestimmung erfolgt, werden pro Probe jeweils 50 μ l Basismix in entsprechende Reaktionsgefäße aufgeteilt. Anschließend werden 2 μ l cDNA eingesetzt. Jeweils 25 μ l der Proben werden für die PCR in die Reaktionsplatte, der sogenannten Mikrotiterplatte (Micro Amp optical 96 Well), gegeben. Zusätzlich zu den zu untersuchenden Proben werden Felder der Mikrotiterplatten mit Proben des Leerwertes und der Standardkurve mitgeführt. Der Leerwert ist eine Probe, der Wasser anstelle von DNA zugeführt wird. Die cDNA der Proben für die Standardkurve stammen aus Zelllinien oder nativen Zellen, die den gesuchten Genabschnitt besonders hoch exprimieren. Nach Einsatz der Proben erfolgt die eigentliche PCR mit 40 Zyklen. Im ersten Schritt werden die Proben für zehn Minuten auf ≤ 95 °C erhitzt. Dabei werden die cDNA-Doppelstränge denaturiert und zudem wird die Ampli Taq Gold[®] Polymerase aktiviert. Es folgen 40 Zyklen, die jeweils aus einer Denaturierungsphase und einer Extensionsphase bestehen. Während der Denaturierungsphase werden die cDNA-Doppelstränge durch Erhitzen auf 95°C für 15 Sekunden getrennt. Daran schließt sich die einminütige Extensionsphase an, in der es zum Anlagern der Primer und Sonden an die cDNA, dem sogenannten Annealing, kommt. Hierfür werden die Proben für eine Minute auf 60 °C abgekühlt. Da die AmpliTaq Gold[®] Polymerase bei dieser Temperatur bereits eine signifikante Aktivität aufweist, erfolgt in dieser Phase gleichzeitig zum Annealing auch die Extension.

Die Farbemissionen der Sonde werden gemessen und mittels eines integrierten Computer-

programms ausgewertet (ABI Prism[®] 7900HT Sequenz Detection System).

Tab. 4.7 – Bestandteile des TaqMan[®] Universal-Master-Mix.

10× TaqMan [®] Reaktionspuffer
MgCl ₂ 25 mM
dNTP 205 mM
AmpliTaq Gold [®] Polymerase

Quantifizierung des PCR-Produktes

Bei dem Vorgang der PCR handelt es sich um eine exponentiell verlaufende Reaktion. Dabei kommt es zu einer Verdoppelung der Reaktionsprodukte pro Zyklus, vorausgesetzt die Effizienz der Reaktion liegt bei 100 %. Aus dieser Tatsache lässt sich die PCR-Reaktion in folgender mathematischen Formel (Gleichung 4.1) darstellen

$$y = (1 + E)^z \cdot x. \quad (4.1)$$

Bei einer Effizienz von 100 % (E=1) ergibt sich folgende Gleichung

$$y = (2)^z \cdot x, \quad (4.2)$$

wobei y die Menge der hergestellten Amplifikate, x die Startkopienzahl, E die Effizienz der Reaktion und z die Anzahl der PCR-Zyklen ist. Mithilfe von Proben mit bekannter DNA-Konzentration oder mit definierten Verdünnungsreihen lässt sich eine Standardkurve erstellen. In dieser Arbeit wurde eine 10er-Verdünnungsreihe von 1:1 bis 1:1000 verwendet. Wird nach Ablauf der PCR für das Fluoreszenzsignal ein Schwellenwert definiert, ist zu erkennen, dass jede Probe der Verdünnungsreihe diesen Schwellenwert nach einer bestimmten Anzahl von Zyklen erreicht hat. Nach der oben beschriebenen Gleichung 4.2 hat sich die DNA-Menge innerhalb von 3,33 Zyklen um den Faktor 10 vervielfältigt (Gleichung 4.3)

$$y = 2^{3,33} \cdot x = 10 \cdot x. \quad (4.3)$$

Der Zyklus, bei dem der definierte Schwellenwert erreicht wird, heißt Grenzwertzyklus oder C_t-Wert. Da das Fluoreszenzsignal in Abhängigkeit zur DNA-Konzentration steht, ist somit

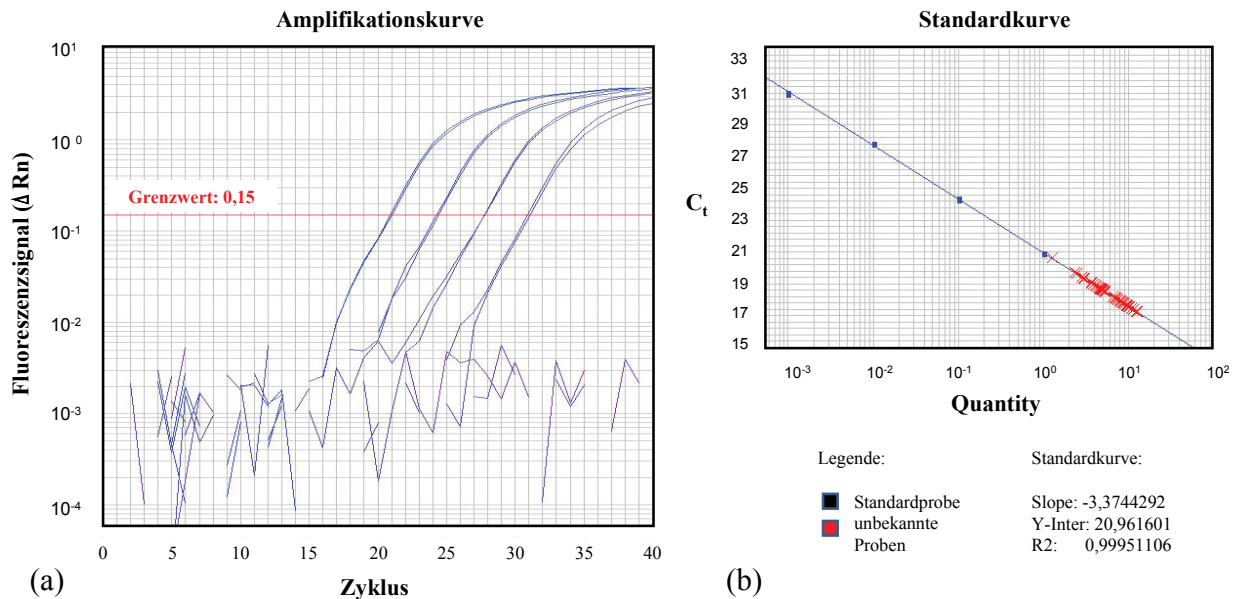


Abb. 4.1 – (a) Aufzeichnung der Realtime PCR, $\log \Delta Rn$ über die Zykluszahl bei den Proben der Standardkurve. (b) Graphische Darstellung der Standardkurve des Kalibrators. C_t -Wert über dem \log der Kopienzahl (Quantity).

der C_t -Wert abhängig von der DNA-Menge. Bei einer Verdünnungsreihe um den Faktor 10 steigt der C_t -Wert um 3,33 Zyklen. In Abbildung 4.1-a sind die Messwerte zur Generierung der Standardkurve aus Abbildung 4.1-b dargestellt.

Die absolute Konzentration der cDNA ist in der verwendeten Verdünnungsreihe nicht bekannt, daher wird der unverdünnten Probe der Wert 1 zugeschrieben. Durch Logarithmieren wird eine Standardkurve erzeugt, in der die Zykluszahl auf der Ordinate und der \log der Kopienzahl auf die Abszisse aufgetragen ist. Mit den Proben der Standardkurve werden gleichzeitig auch die zu untersuchenden Proben mittels PCR vervielfältigt und in die Berechnung eingefügt. Es ergibt sich nach Definition des Schwellenwertes für jede Probe ein individueller C_t -Wert. Dieser C_t -Wert kann durch die logarithmische Darstellung in Verbindung mit den Ergebnissen der Standardkurve dem Ausgangswert der DNA-Menge zugeordnet werden.

Methoden der unterschiedlichen Quantifizierung

Aus der oben beschriebenen Mengenbestimmung ergeben sich zwei Möglichkeiten der Quantifizierung. Wird die Standardkurve mit bekannten DNA-Konzentrationen erstellt, kann mittels der absoluten Quantifizierung eine Aussage über die absolute DNA-Konzentration in den zu untersuchenden Proben getroffen werden. Voraussetzung ist daher die Bestimmung der Molekülzahl in den Standardproben.

Wenn diese Anzahl der Moleküle nicht bekannt ist, wird die Methode der relativen Quantifizierung verwendet. Hier wird die DNA-Menge einer zu untersuchenden Probe in Relation zu der Menge einer Referenzprobe gesetzt. Dabei handelt es sich um eine semiquantitative Bestimmung. Das Ergebnis ist nicht eine Konzentration bzw. Molekülmenge, sondern das Verhältnis der DNA-Menge der unbekannten Probe zu der DNA-Menge der Referenzprobe. Dieser Wert ist dimensionslos. Die Referenzprobe, die zur Bildung einer Standardkurve herangezogen wird, heißt Kalibrator. Als Kalibratoren werden native Zellen bzw. Zellen aus Zelllinien verwendet, die das gesuchte Gen hoch exprimieren. In dieser Arbeit werden folgende Kalibratoren für die entsprechenden Gene verwendet: Adiponektin - humane Adipozyten, IGFBP-2 - KG1 und β 2-Mikroglobulin - K562.

Mithilfe der Kalibratoren werden die oben beschriebenen Verdünnungsreihen angesetzt. Die unverdünnte Probe erhält den Wert 1, auf diesen Wert beziehen sich die Ergebnisse der zu untersuchenden Proben. Um eine relative Quantifizierung vornehmen zu können, ist es notwendig, die Expression des interessierenden Gens einer Probe, hier Zielgen genannt, im Verhältnis zur Expression eines Referenzgenes derselben Proben zu setzen. Dieser Vorgang wird als Normalisierung bezeichnet. Das Referenzgen ist ein Gen, das grundlegende Zellfunktionen besitzt und so in allen Zellen aktiv ist. Dieses Gen wird Housekeeping-Gen (HKG) genannt. In dieser Arbeit wurde das Housekeeping-Gen β 2-Mikroglobulin verwendet. Die Normalisierung ist notwendig, da trotz präziser Arbeit nicht gewährleistet werden kann, dass in jede Probe die gleiche Menge cDNA gegeben wurde und bereits kleinste Mengendifferenzen bei den Mengen große Schwankungsbreiten verursachen können.

Die relative Quantifizierung lässt sich auf zwei Wegen durchführen. Zum einen kann sie mittels Standardkurve oder aber mit der vergleichenden C_t -Methode berechnet werden. In dieser Arbeit wurde eine relative Quantifizierung mittels Standardkurve gewählt, da sie zulässig ist, wenn sich die Effizienten von Zielgen und HKG unterscheiden oder sie nicht bekannt sind.

Berechnung der relativen Quantifizierung mittels Standardkurven-Methode

Zuerst erfolgt die Normalisierung des Kalibrators (Gleichung 4.4)

$$\frac{\text{Wert des Zielgens}_{(\text{Kalibrator})}}{\text{Wert des HKG}_{(\text{Kalibrator})}} = \text{Kalibrator}_{(\text{normalisiert})} \cdot \quad (4.4)$$

Es folgt die Normalisierung der Probe (Gleichung 4.5)

$$\frac{\text{Wert des Zielgens}_{(\text{Probe})}}{\text{Wert des HKG}_{(\text{Probe})}} = \text{Probe}_{(\text{normalisiert})} \cdot \quad (4.5)$$

Die Menge der cDNA der Probe wird relativ zur Menge des Kalibrators gesetzt, nachdem beide normalisiert wurden

$$\frac{\text{Probe}_{(\text{normalisiert})}}{\text{Kalibrator}_{(\text{normalisiert})}} = x \cdot \quad (4.6)$$

Aus Gleichung 4.6 ergibt sich das Verhältnis zwischen Zielgenexpression der Probe und Zielgenexpression des Kalibrators. Die in dieser Arbeit beschriebenen Werte für die Genexpression lassen sich als Faktor x bezeichnen, um den das Gen der Probe gegenüber dem des Kalibrators gebildet wird. Somit ergibt sich: $x=1$ - Gen wird in der Probe in gleicher Menge gebildet wie im Kalibrator, $x<1$ - Gen wird in der Probe weniger als im Kalibrator gebildet und $x>1$ - Gen wird in der Probe mehr als im Kalibrator gebildet.

Abschnitt 4.5

Statistik

Die Verwendung aller im folgenden aufgeführten Verfahren und Tests erfolgte nach Betreuung und Absprache mit dem Institut für klinische Statistik, Information und Dokumentation des Klinikums der Friedrich-Schiller-Universität Jena unter Leitung von Herrn Prof. Dr. Witte. Die sich aus den Untersuchungen ergebenden Werte wurden unter folgender Fragestellung betrachtet:

Unterschiede der Serumkonzentrationen im mütterlichen und fetalen Organismus zur Geburt.

Beurteilung der Genexpression in Plazenten und mononukleärer Zellen.

Einfluss der Genexpression auf die Serumkonzentration.

Zusammenhänge der erhobenen klinischen Parameter mit der Serumkonzentration bzw. der Genexpression.

Für die Beurteilung von Unterschieden zwischen den verschiedenen Gruppen wurde nach einer Prüfung auf Normalverteilung der t-Test für unabhängige Stichproben angewandt. Bei fehlender Normalverteilung und Asymmetrie wurde auf den U-Wilcoxon-Mann-Whitney-Test zurückgegriffen. Um die materno-fetale Einheit zu berücksichtigen, erfolgte der Vergleich von Serumkonzentrationen im mütterlichen und fetalen Blut mittels des t-Testes für gepaarte Stichproben.

Die Zusammenhänge zwischen den Serumkonzentrationen untereinander und mit den Genexpressionen wurden mittels des Korrelationskoeffizienten nach Pearson beschrieben. Um der Merkmalscharakteristik der erhobenen klinischen Parameter gerecht zu werden, wurden die Tests zur Abhängigkeitsanalyse entsprechend ausgewählt. Für metrische Merkmale wurde der Korrelationskoeffizient nach Pearson und für mindestens ordinale Werte der Spearman-Rangkorrelationskoeffizient verwendet. Um Hinweise auf den Einfluss von Alkohol und Nikotin zu erhalten, wurden exponierte Proben mit Proben ohne Exposition mittels U-Wilcoxon-Mann-Whitney-Test verglichen. Zur Ermittlung von Zusammenhängen bei mehr als zwei nominalen Ausprägungen wurden die Gruppen entsprechend ihrer Beschreibung aufgeteilt und miteinander durch den Kruskal-Wallis Test für k-unabhängige Stichproben verglichen. Die Auswertung erfolgte über exakte zweiseitige Signifikanz.

Ergebnisse

Abschnitt 5.1

Darstellung des Serummaterials

5.1.1 Vergleich mütterlicher und fetaler Serumkonzentrationen

In der vorliegenden Arbeit werden die Serumkonzentrationen der Wachstumsparameter Adiponektin und IGFBP-2 bei insgesamt 19 Müttern und 20 Neugeborenen untersucht. Zur Gewinnung der Seren von Neugeborenen wurde ausschließlich Nabelschnurblut verwendet. Die Mittelwerte der Adiponektin-Serumkonzentrationen sind in Tabelle 5.1 dargestellt.

Tab. 5.1 – Darstellung der Mittelwerte sowie des kleinsten und größten Wertes der Adiponektin-Konzentrationen im maternalen sowie fetalen Serum.

Serumkonzentration	Mütter (n=19) in µg/ml	Nabelschnurblut (n=20) in µg/ml
Adiponektin	6,38 (2,6-10,95)	34,88 (5,63-55,0)

Die Mittelwerte der IGFBP-2-Konzentrationen werden in Tabelle 5.2 gezeigt.

Tab. 5.2 – Darstellung der Mittelwerte sowie des kleinsten und größten Wertes der IGFBP-2-Konzentrationen im maternalen sowie fetalen Serum.

Serumkonzentration	Mütter (n=19) in ng/ml	Nabelschnurblut (n=20) in ng/ml
IGFBP-2	97,87 (49,33-392,7)	744,95 (303,38-1448,05)

In Abbildung 5.1 werden die fetalen Adiponektin und IGFBP-2-Konzentrationen sowie die mütterlichen Serumkonzentrationen gemeinsam dargestellt. Sowohl im Nabelschnurblut als auch im maternalen Serum findet sich ein signifikanter Unterschied zwischen der Adiponektin- und der IGFBP-2-Konzentration. Dabei liegt die Adiponektinkonzentration im Nabelschnurblut mit 34883 ng/ml \pm 14587 ng/ml (entspricht 34,883 µg/ml \pm 14,58 µg/ml) um ein vielfaches höher als die IGFBP-2-Konzentration mit 744,95 ng/ml \pm 306,81 ng/ml.

Dieser signifikante Unterschied lässt sich auch im mütterlichen Serum nachweisen. Hier ist

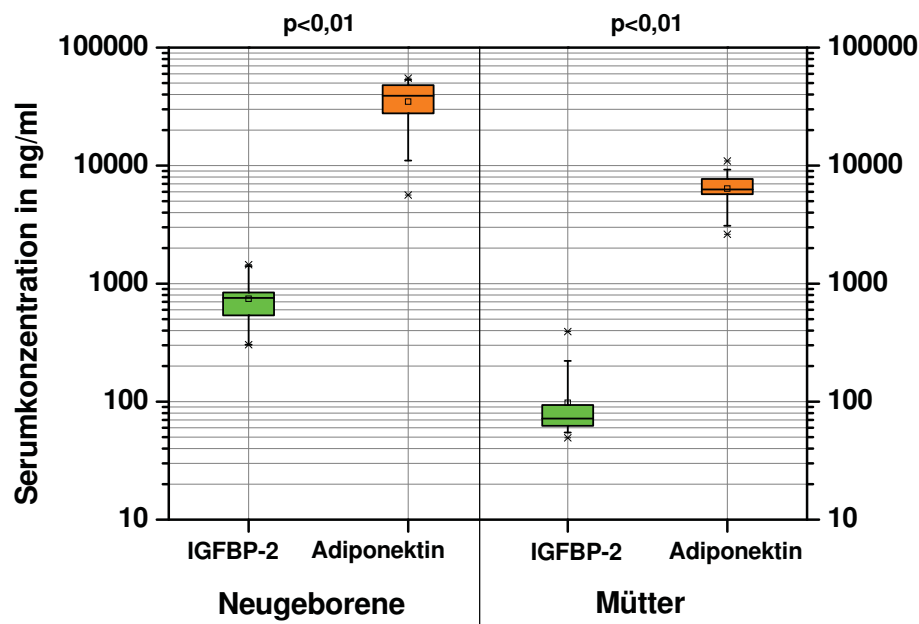


Abb. 5.1 – Konzentrationen von Adiponektin und IGFBP-2 im Serum Neugeborener und im mütterlichen Serum.

die Adiponektinkonzentration mit $6387,97 \text{ ng/ml} \pm 2084,56 \text{ ng/ml}$ (entspricht $6,38 \text{ } \mu\text{g/ml} \pm 2,08 \text{ } \mu\text{g/ml}$) ebenfalls deutlich höher als die IGFBP-2-Konzentration, deren Wert $97,877 \text{ ng/ml} \pm 81,13 \text{ ng/ml}$ beträgt.

Adiponektinkonzentration im mütterlichen Serum sowie im Nabelschnurblut

In Abbildung 5.2-a sind die Serumkonzentrationen für Adiponektin in mütterlichem und fetalem Blut gezeigt. Die Serumkonzentration von Adiponektin im Nabelschnurblut ist mit $34,88 \text{ } \mu\text{g/ml} \pm 14,58 \text{ } \mu\text{g/ml}$ jedoch signifikant höher als die im mütterlichen Serum, die im Mittel $6,38 \text{ } \mu\text{g/ml} \pm 2,08 \text{ } \mu\text{g/ml}$ beträgt. Ob ein Zusammenhang zwischen der Adiponektinkonzentration im Nabelschnurblut und dem mütterlichen Serum besteht, wird mittels Korrelationsanalyse untersucht. Dabei kann, wie in Abbildung 5.2-b dargestellt, keine signifikante Korrelation zwischen den Adiponektin-Serumkonzentrationen von Müttern und Kindern nachgewiesen werden.

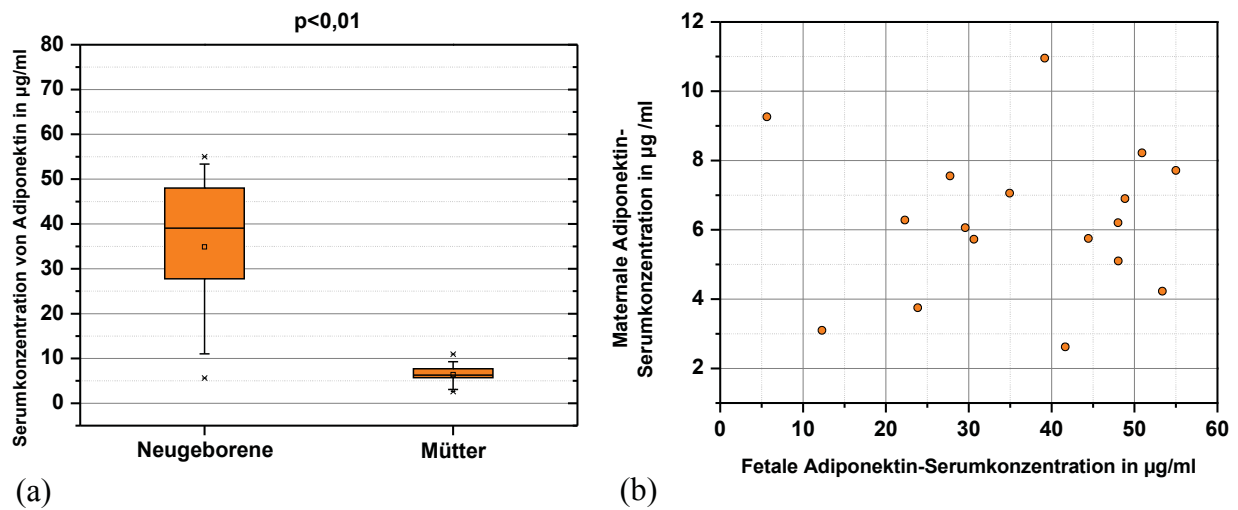


Abb. 5.2 – (a) Adiponektin-Serumkonzentrationen in fetalem und mütterlichem Serum. (b) Korrelation zwischen mütterlicher und fetaler Adiponektin-Serumkonzentration ($r=-0,148$; $p=0,559$).

IGFBP-2-Konzentration im mütterlichen Serum und im Nabelschnurblut

In Abbildung 5.3-a werden die IGFBP-2-Serumkonzentrationen im Nabelschnurblut und im mütterlichen Serum dargestellt. Wie auch bei den Adiponektin-Serumkonzentrationen zeigen sich ebenfalls signifikant höhere IGFBP-2-Serumkonzentrationen im fetalen Serum gegenüber dem mütterlichen Serum. Der Mittelwert im fetalen Serum liegt mit $744,95\text{ng/ml} \pm 306,81\text{ ng/ml}$ 7,5-fach höher als die mütterliche Serumkonzentration, die $97,87\text{ng/ml}$

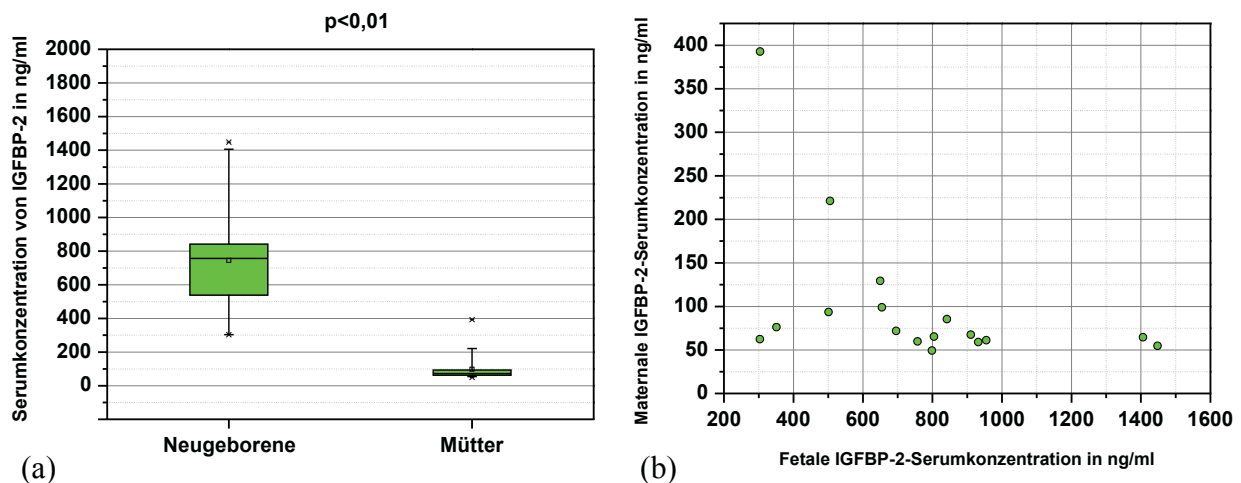


Abb. 5.3 – (a) IGFBP-2-Serumkonzentration im fetalen und mütterlichen Serum. (b) Korrelation zwischen mütterlicher und fetaler IGFBP-2-Serumkonzentration ($r=-0,122$; $p=0,629$).

$\pm 81,13$ ng/ml beträgt. Der Einfluss der Serumkonzentration eines Organismus auf die des anderen wurde mittels Korrelationsanalyse untersucht. Dabei zeigt sich keine Korrelation zwischen der fetalen und mütterlichen Serumkonzentration (siehe Abbildung 5.3-b.)

5.1.2 Vergleich geschlechtsspezifischer Unterschiede in fetalen Serumkonzentrationen

Zur Identifizierung möglicher geschlechtsspezifischer Unterschiede werden die Werte der fetalen Serumproben dem Geschlecht des Kindes zugeordnet. Die 20 Serumproben der Neugeborenen gliedern sich in 12 weibliche und 8 männliche Serumproben. Aus Tabelle 5.3 und Tabelle 5.4 wird ersichtlich, dass weder bei Adiponektin noch bei IGFBP-2 ein signifikanter Unterschied zwischen weiblichem und männlichem Serum nachgewiesen werden kann.

Tab. 5.3 – Mittelwertvergleich der Serumkonzentrationen von Adiponektin im Serum weiblicher bzw. männlicher Neugeborener, angegeben ist zusätzlich der kleinste und größte Wert.

Serumkonzentration	♀ (n=12) in µg/ml	♂ (n=8) in µg/ml	t-Test
Adiponektin	38,55 (5,6-55,0)	29,4 (11,0-37,0)	p=0,160

Der Mittelwert für Adiponektin im Nabelschnurblut weiblicher Neugeborener lag bei 38,55 µg/ml (5,6-55,0 µg/ml), während der Mittelwert der Adiponektinkonzentration bei männlichen Neugeborenen 29,37 µg/ml (11,02-48,04 µg/ml) betrug. Die IGFBP-2-Serumkonzentration weiblicher Neugeborener lag bei 736,7 ng/ml (303,4-1448 ng/ml), die männlicher Neugeborener bei 757,2 ng/ml (501,2-1405,9 ng/ml).

Tab. 5.4 – Mittelwertvergleich der Serumkonzentrationen von IGFBP-2 im Serum weiblicher bzw. männlicher Neugeborener, angegeben ist zusätzlich der kleinste und größte Wert.

Serumkonzentration	♀ (n=12) in ng/ml	♂ (n=8) in ng/ml	t-Test
IGFBP-2	736,7 (303,4-1448,0)	757,2 (501,2-1405,9)	p=0,888

5.1.3 Vergleich fetaler Serumkonzentrationen bei unterschiedlichem Geburtsstress

Die Art der Entbindung hat vielfältige Auswirkungen auf das Kind nach der Geburt. Um eine mögliche Beeinflussung des Geburtsmodus auf die Konzentrationen für Adiponektin und IGFBP-2 im fetalen Serum erkennen zu können, wurden die Proben gemäß ihrer Entbindung eingeteilt. Von 20 Kindern wurden 9 spontan und 11 Kinder per Sectio caesarea entbunden.

Aus den Tabellen 5.5 und 5.6 wird deutlich, dass die Art der Entbindung weder in der Adiponektin- noch in der IGFBP-2-Serumkonzentration zu einem signifikanten Unterschied führt. Aufgrund der normalverteilten Werte für Adiponektin im fetalen Serum kann hier der t-Test für unabhängige Stichproben angewandt werden. Diese Voraussetzung trifft jedoch bei den Werten für IGFBP-2 nicht zu, so dass zur Signifikanzprüfung eines Unterschiedes der U-Wilcoxon-Mann-Whitney- Test durchgeführt werden muss.

Tab. 5.5 – Mittelwertvergleich der Serumkonzentrationen von Adiponektin bei spontaner Entbindung bzw. Entbindung per Sectio caesarea, angegeben ist zusätzlich der kleinste und größte Wert.

Serumkonzentration	Spontan (n=9) in µg/ml	Sectio caesarea (n=11) in µg/ml	t-Test
Adiponektin	34,55 (16,40-54,99)	35,15 (5,63-53,36)	p=0,089

Tab. 5.6 – Mittelwertvergleich der Serumkonzentrationen von IGFBP-2 bei spontaner Entbindung bzw. Entbindung per Sectio caesarea, angegeben ist zusätzlich der kleinste und größte Wert. UWMW = U-Wilcoxon-Mann-Whitney-Test

Serumkonzentration	Spontan (n=9) in ng/ml	Sectio caesarea (n=11) in ng/ml	UWMW- Test
IGFBP-2	469,5 (59,8-1405,9)	383,5 (49,3-1448,0)	p=0,138

5.1.4 Zusammenhang zwischen Adiponektin- und IGFBP-2-Serumkonzentrationen und den erhobenen klinischen Daten von Müttern und Neugeborenen

Beschreibung der erhobenen klinischen Daten

Um die Zusammenhänge, welche zwischen den Serumkonzentrationen der untersuchten Wachstumsparameter Adiponektin bzw. IGFBP-2 und dem mütterlichen sowie kindlichen Organismus bestehen, zu untersuchen, wurden während der Probengewinnung die klinisch relevanten Parameter von Müttern und ihren Neugeborenen erhoben.

Tab. 5.7 – Klinische Parameter der Mütter.

Kriterium	Mittelwert	Standardabweichung
Alter der Mutter	26,81 Jahre	±4,94 Jahre
Gewicht vor SS	62,94 kg	±9,54 kg
Gewicht zur Geburt	77,21 kg	±9,11 kg
Gewichtszunahme während SS	17,04 kg	±5,03 kg
BMI vor SS	23,16	±4,11
BMI zur Geburt	28,26	±3,87
Körpergröße	1,65 m	±0,05 m
Anzahl der SS	2,05	±1,43
Anzahl der Geburten	1,57	±0,98
Hämoglobin	7,70 g/dl	±0,98 g/dl
Hämatokrit	0,36	±0,03
Thrombozyten	198,73 1/nl	±64,83 1/nl
CrP	31,73 mg/l	±38,04 mg/l

Tab. 5.8 – Quantitative Erfassung der Erkrankungen der Mutter sowie Einnahme von Medikamenten und Noxen während der Schwangerschaft.

Kriterium	Anzahl Mütter	Σ Mütter
Nikotinkonsum	4	22
Alkoholkonsum	4	22
Medikamenteneinnahme während SS	2	22

Tab. 5.9 – Klinische Parameter der Neugeborenen.

Kriterium	♀ (n=10)	♂ (n=13)
Geburtsgewicht	3357,77 g ($\pm 358,87$ g)	3516,66 g ($\pm 539,58$ g)
Geburtslänge	49,44 cm ($\pm 2,12$ cm)	52,16 cm ($\pm 2,85$ cm)
Kopfumfang	34,27 cm ($\pm 0,9$ cm)	35,33 cm ($\pm 0,40$ cm)
Brustumfang	33,27 cm ($\pm 1,22$ cm)	33,41 cm ($\pm 2,60$ cm)
Biparietaler Durchmesser	9,27 cm ($\pm 0,38$ cm)	9,36 cm ($\pm 0,57$ cm)
Plazentagewicht	608,94 g ($\pm 115,67$ g)	654,33 g ($\pm 100,43$ g)
Reifealter	39,3 Wo. ($\pm 1,32$ Wo.)	39,5 Wo. ($\pm 1,20$ Wo.)
Nabelarterien pH	7,27 ($\pm 0,04$)	7,27 ($\pm 0,04$)
Nabelvenen pH	7,35 ($\pm 0,04$)	7,33 ($\pm 0,04$)
APGAR 1	8,11 ($\pm 0,04$)	8,83 ($\pm 0,75$)
APGAR 5	8,78 ($\pm 0,97$)	9,33 ($\pm 0,52$)
APGAR 10	9,11 ($\pm 1,05$)	9,50 ($\pm 0,55$)

In den Tabellen 5.7 und 5.8 sind die klinischen Daten der Mütter erfasst, während die kindlichen Parameter in den Tabellen 5.9 und 5.10 dargestellt sind.

Um die Einflüsse von Adiponektin und IGFBP-2 auf eine physiologische Schwangerschaft und ihren Zusammenhang auf regelrechtes Wachstum während der Fetalperiode zu betrachten, werden hauptsächlich Proben reifer, normotropher und altersentsprechend entwickelter Neugeborener und ihrer Mütter mit komplikationsloser Schwangerschaft gewählt. Daher ergeben sich Mittelwerte für das Geburtsgewicht von Mädchen mit 3357 g und von Knaben mit 3516 g. Die Mädchen werden im Durchschnitt 39,3 Wochen, die männlichen Neugeborenen 39,5 Wochen ausgetragen. Von 23 Kindern sind 20 reif und 3 zu früh geboren. Für ihr Reifealter haben 14 von 23 Kinder ein regelrechtes Gewicht, 6 sind zu schwer und 3 zu leicht für ihr Reifealter. Nachfolgend werden die Kriterien SGA, AGA und LGA unter dem Begriff Gewichtsstatus zusammengefasst. Die APGAR-Werte liegen für die erste Minute bei 8,11 für Mädchen bzw. 8,83 für Knaben, für die 5. Minute bei 8,78 und 9,33 sowie nach 10 Minuten bei 9,11 für Mädchen und 9,50 für Knaben. Der Nabelarterien-pH liegt bei weiblichen und männlichen Neugeborenen bei 7,27. Der pH-Wert der Nabelvene ist bei Mädchen 7,35 und bei Knaben 7,33. Sowohl 2 männliche als auch 2 weibliche Neugeborene waren in utero einer Nikotin- bzw. Alkoholexposition ausgesetzt. Die Geburtslänge beträgt im Durchschnitt 49,44 cm bzw. 52,16 cm, der Kopfumfang wird mit 34,27 cm und 35,33 cm festgestellt, der Brustumfang liegt bei 33,27 cm und 33,41 cm, der biparietale Durchmesser beträgt 9,27 cm

Tab. 5.10 – Darstellung der Reife, des Gewichtsstatus sowie Einflüsse auf das Neugeborene in Utero und während der Geburt.

Kriterium	♀	♂		Kinder gesamt
Reifgeboren	11	9	20	23
Frühgeboren	2	1	3	23
SGA	2	1	3	23
AGA	9	5	14	23
LGA	2	4	6	23
Spontane Entbindung	6	4	10	23
Sectio caesarea	7	6	13	23
Nikotinexposition	2	2	4	23
Alkoholexposition	2	2	4	23

und 9,36 cm und das Plazentagewicht wird mit 608,94 g und 654,33 g gemessen, dabei entsprechen die jeweils höheren Werte denen der männlichen Neugeborenen. Das Verhältnis zwischen Geburtsgewicht und Plazentagewicht, ausgedrückt als Fetalgewicht-zu-Plazentagewicht-Index, gibt Auskunft über die Versorgungssituation des Feten durch die Plazenta. In unserem Kollektiv lag die Fetalgewicht-zu-Plazentagewicht-Index für Knaben bei 5,37 und für Mädchen bei 5,76. Das durchschnittliche Alter der Mütter betrug 26,81 Jahre, der BMI vor der Schwangerschaft entsprach mit 23,16 dem Normalgewicht. Von den 19 Frauen gaben jeweils vier an, während der Schwangerschaft Zigaretten oder Alkohol konsumiert zu haben. In den Laborwerten zeigt sich ein etwas erniedrigter Hämoglobingewert mit 7,70 g/dl, ein regelrechter Hämatokrit, regelrechte Thrombozytenzahl mit 198,73 1/nl und ein leicht erhöhter CrP-Wert mit 31,73 mg/l. Im Durchschnitt hatten die Frauen 2 Schwangerschaften und 1,6 Geburten. Medikamente wurden von zwei der 19 Mütter eingenommen. Dabei handelte es sich um die einmalige Einnahme von Codein und Hydrotalcit (Talcid®).

Zusammenhang zwischen den klinischen Parametern und der Adiponektinkonzentration im mütterlichen Serum

Welchen Einfluss die Adiponektin-Serumkonzentration der Mutter auf den mütterlichen und auf den fetalen Organismus hat, wird anhand von Abhängigkeitsanalysen untersucht. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 5.11 gezeigt. Zur Ermittlung von Zusammenhängen werden die zuvor beschriebenen klinischen Daten herangezogen. Die Untersuchungen behandeln

Tab. 5.11 – Abhängigkeitsanalyse der mütterlichen Adiponektin-Serumkonzentration mit den erhobenen klinischen Daten. Dargestellt ist der Korrelationskoeffizient für mind. ordinale Werte U-Wilcoxon-Mann-Whitney Test „p“, der Kruskal-Wallis Test bei >2 möglichen Stichproben und der Korrelationskoeffizient für metrische Werte Pearson „r“.

Kriterium	U-Wilcoxon-Mann-Whitney Test	p-Wert
Nikotinkonsum	16,0	0,358
Alkoholkonsum	15,0	0,426
Kriterium	Kruskal-Wallis Test	p-Wert
Gewichtsstatus	4,466	0,107
Blutgruppe	2,461	0,652
Kriterium	Pearson r	p-Wert
Geburtsgewicht	-0,249	0,335
Geburtslänge	0,134	0,608
Kopfumfang	-0,222	0,427
Brustumfang	0,111	0,706
Biparietaler Durchmesser	0,108	0,714
Plazentagewicht	0,350	0,184
Fetalgewicht-zu-Plazentagewicht-Index	0,225	0,385
Reifealter in Tagen	0,069	0,791
Alter der Mutter	0,004	0,987
Gewicht der Mutter vor SS	-0,583	0,018 **
Gewicht der Mutter zur Geburt	-0,632	0,009 *
Gewichtszunahme während der SS	-0,077	0,785
Körpergröße der Mutter	0,437	0,070
BMI vor SS	-0,714	0,002 *
BMI zur Geburt	-0,448	0,000 *
Hb der Mutter	0,006	0,984
Hk der Mutter	-0,172	0,5593
maternale Thrombozyten	0,046	0,886
maternales CrP	0,224	0,485

* ist auf dem Niveau $p=0,01$ signifikant

** ist auf dem Niveau $p=0,05$ signifikant

Mütter zwischen 18 und 40 Jahren. Einen altersbedingten Einfluss auf die mütterliche Serumkonzentration kann in diesem Altersabschnitt nicht nachgewiesen werden. Vor der Schwangerschaft liegt der mütterliche BMI zwischen 17 und 35, wobei das Mittel mit 23 normalgewichtig ist. Während der Schwangerschaft kommt es zu einer durchschnittlichen Gewichtszunahme von 17,03 kg. Diese durchschnittliche Gewichtszunahme liegt etwas höher als die in der Literatur mit 12 kg angegebene Gewichtszunahme. Der BMI zur Geburt erhöhte sich und liegt daraufhin zwischen 22 und 37. Das Körpergewicht liegt vor der Schwangerschaft zwischen 50 kg und 89 kg, zur Geburt werden Werte von 61 kg bis 100 kg angegeben.

Ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem BMI bzw. Körpergewicht und der Adiponektin-Serumkonzentration zur Geburt lässt sich sowohl vor der Schwangerschaft als auch zum Zeitpunkt der Geburt finden (Abb. 5.4-a-d). Die Gewichtszunahme, die in der Schwangerschaft erfolgt, korreliert allerdings nicht mit der maternalen Adiponektinkonzentration zur Geburt (Abb. 5.4-e). Der Einfluss des mütterlichen Adiponektingehaltes im Serum auf den fetalen Organismus wird ebenfalls mit den zuvor ermittelten Daten durch Abhängigkeitsanalysen untersucht. Einen Einfluss der mütterlichen Serumwerte auf das Wachstum des Kindes, welches durch Gewicht, Körperlänge, Kopfumfang, biparietaler Durchmesser und Brustumfang erfasst wird, kann nicht nachgewiesen werden. Auch ein Zusammenhang zwischen Adiponektin und klinisch chemischen Werten wie Hämoglobin, Hämatokrit, Thrombozytenzahl oder C-reaktives Protein kann nicht ermittelt werden. In der ausgewerteten Stichprobe geben jeweils vier Mütter an, Alkohol oder Nikotin während der Schwangerschaft zu sich genommen zu haben. Eine Aussage über den möglichen Einfluss dieser Substanzen auf die Adiponektin-Serumkonzentration kann aufgrund der geringen Anzahl nicht getroffen werden.

Zusammenhang zwischen den klinischen Parametern und der Adiponektinkonzentration im Nabelschnurblut

Die fetale Adiponektin-Serumkonzentration wird ebenfalls mit den erhobenen Parametern korreliert, siehe dazu Tabelle 5.12.

Das Geburtsgewicht der Kinder liegt im Durchschnitt bei 3357 g bei weiblichen Neugeborenen und 3516 g bei männlichen Neugeborenen. In der Korrelationsanalyse zeigt sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Geburtsgewicht und den Adiponektinkonzentrationen im fetalen Serum, wobei die Kinder mit höherem Geburtsgewicht höhere

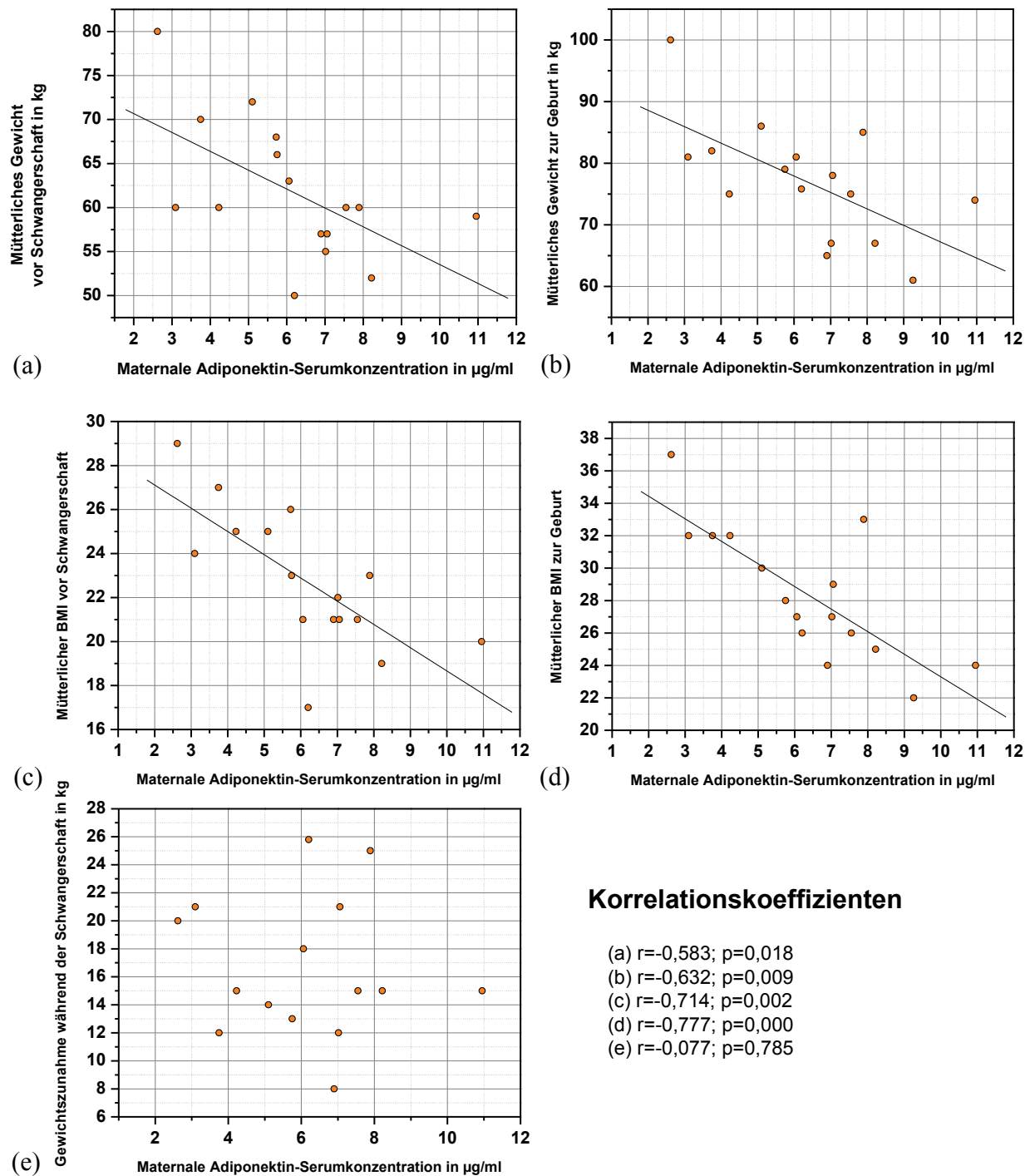


Abb. 5.4 – Korrelation zwischen der maternalen Adiponektin-Serumkonzentration zur Geburt und (a) dem mütterlichen Gewicht vor der Schwangerschaft, (b) dem Gewicht zur Geburt, (c) dem BMI vor SS, (d) dem BMI zur Geburt bzw. (e) der Gewichtszunahme während der Schwangerschaft.

Tab. 5.12 – Abhängigkeitsanalyse der fetalen Adiponektin-Serumkonzentration mit den erhobenen klinischen Daten. Dargestellt ist der Spearman Rangkoeffizient, der Korrelationskoeffizient für mind. ordinale Werte U-Wilcoxon-Mann-Whitney Test „p“, der Kruskal-Wallis Test bei >2 möglichen Stichproben und der Korrelationskoeffizient für metrische Werte Pearson „r“.

Kriterium	Spearman R^2	p-Wert
APGAR 1	0,107	0,652
APGAR 5	-0,180	0,449
APGAR 10	-0,063	0,792
Kriterium	U-Wilcoxon-Mann-Whitney Test	p-Wert
Nikotinkonsum	21,0	0,689
Alkoholkonsum	8,0	0,100
Kriterium	Kruskal-Wallis Test	p-Wert
Gewichtsstatus	1,823	0,428
Blutgruppe	4,168	0,414
Kriterium	Pearson r	p-Wert
Geburtsgewicht	0,535	0,018 *
Geburtslänge	0,021	0,934
Kopfumfang	0,142	0,587
Brustumfang	0,436	0,091
Biparietaler Durchmesser	0,313	0,238
Plazentagewicht	0,060	0,812
Fetalgewicht-zu-Plazentagewicht-Index	0,418	0,095
Reifealter in Tagen	0,599	0,007 *
Alter der Mutter	0,341	0,141
Gewicht der Mutter vor SS	0,068	0,788
Gewicht der Mutter zur Geburt	0,363	0,138
Körperlänge der Mutter	0,107	0,652
BMI vor SS	-0,096	0,704
BMI zur Geburt	0,362	0,140
Hb der Mutter	0,020	0,942
Hk der Mutter	0,062	0,840
maternale Thrombozyten	-0,418	0,155
maternales CrP	0,144	0,639

* ist auf dem Niveau $p=0,05$ signifikant

Adiponektinwerte aufweisen (Abb. 5.5-a). Der Gewichtsstatus, unter dem SGA, AGA und LGA zusammengefasst werden, zeigt keinen Einfluss auf die Adiponektinkonzentration. Die Schwangerschaftsdauer wird als Reifealter in Tagen angegeben. Dabei werden die Kinder zwischen der 32. und 42. Schwangerschaftswoche geboren, wobei der Großteil in der 39. Schwangerschaftswoche entbunden wird. Es handelt sich somit im Durchschnitt um reif geborene Kinder. Die fetalen Serumkonzentrationen für Adiponektin zeigen einen signifikanten Zusammenhang zum Reifealter der Kinder (Abb. 5.5-b). Hier waren höhere Serumkonzentrationen nachzuweisen, je länger die Schwangerschaftsdauer war.

Korrelationen mit weiteren Parametern, wie Körperlänge, Kopfumfang oder Brustumfang können nicht beschrieben werden. Ebenso besteht kein Zusammenhang zwischen der Adiponektin-Serumkonzentration und dem Plazentagewicht. Einflussnahme der mütterlichen Parameter auf die Adiponektinkonzentration im fetalen Serum bzw. deren Auswirkung auf den mütterlichen Organismus können nicht festgestellt werden. Dass Nikotinkonsum Einfluss auf die fetale Adiponektinkonzentration nimmt, kann aufgrund der geringen Anzahl an rauchenden Müttern ($n=4$) nicht verifiziert werden.

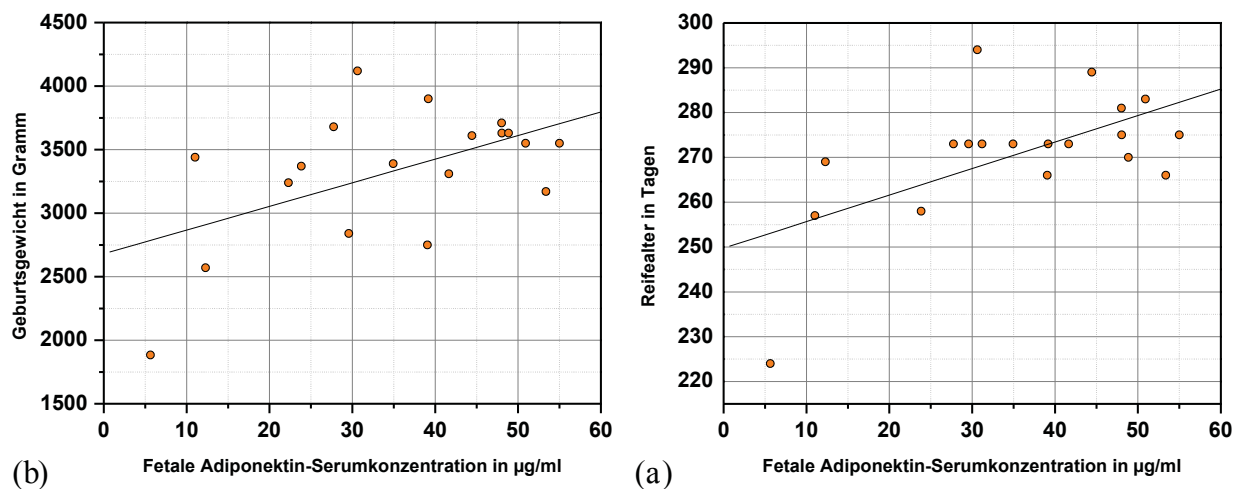


Abb. 5.5 – Korrelation zwischen der fetalen Adiponektin-Serumkonzentration und (a) dem Geburtsgewicht ($r=0,535$; $p=0,018$) bzw. (b) dem Reifealter ($r=0,599$; $p=0,007$).

Tab. 5.13 – Abhängigkeitsanalyse der mütterlichen IGFBP-2-Serumkonzentrationen mit den erhobenen klinischen Daten. Dargestellt ist der Korrelationskoeffizient für mind. ordinale Werte U-Wilcoxon-Mann-Whitney Test „p“, der Kruskal-Wallis Test bei >2 möglichen Stichproben und der Korrelationskoeffizient für metrische Werte Pearson „r“.

Kriterium	U-Wilcoxon-Mann-Whitney Test	p-Wert
Nikotinkonsum	25,0	1,000
Alkoholkonsum	22,5	0,765
Kriterium	Kruskal-Wallis Test	p-Wert
Gewichtsstatus	3,400	0,189
Blutgruppe	6,515	0,153
Kriterium	Pearson r	p-Wert
Geburtsgewicht	-0,113	0,665
Geburtslänge	-0,329	0,197
Kopfumfang	-0,247	0,374
Brustumfang	-0,039	0,896
Biparietaler Durchmesser	0,201	0,491
Plazentagewicht	-0,194	0,471
Fetalgewicht-zu-Plazentagewicht-Index	-0,007	0,981
Korrigiertes Reifealter	0,084	0,750
Alter der Mutter	0,055	0,827
Gewicht der Mutter vor SS	-0,183	0,498
Gewicht der Mutter zur Geburt	-0,279	0,296
Körperlänge der Mutter	-0,415	0,124
BMI vor SS	-0,265	0,321
BMI zur Geburt	-0,345	0,190
Hb der Mutter	0,137	0,655
Hk der Mutter	-0,018	0,956
maternale Thrombozyten	0,171	0,595
maternales CrP	0,366	0,243

5.1.5 Zusammenhang zwischen IGFBP-2-Serumkonzentrationen und den erhobenen klinischen Daten von Müttern und Neugeborenen

In den Tabellen 5.13 und 5.14 sind die Ergebnisse der Korrelationsanalyse der IGFBP-2-Konzentrationen mit den in Abschnitt 5.1.4 beschriebenen klinischen Daten abgebildet. Auch hier werden sowohl mütterliche als auch kindliche Daten mit fetalen bzw. mütterlichen IGFBP-2-Serumkonzentrationen verglichen.

Zusammenhang zwischen klinischen Parametern und IGFBP-2-Konzentration im mütterlichen Serum

Die mütterliche Serumkonzentration von IGFBP-2 zeigt keine Korrelation mit den erhobenen Daten (Tab. 5.13). Auch Einflüsse auf das fetale Wachstum lassen sich nicht erheben. Der Konsum von Alkohol und Nikotin während der Schwangerschaft wird von jeweils vier Müttern angegeben. Einen Einfluss auf die mütterliche IGFBP-2-Serumkonzentration lässt sich dabei nicht nachweisen.

Zusammenhang zwischen den klinischen Parametern und IGFBP-2-Konzentration im Nabelschnurblut

Im Gegensatz zu den im fetalen Serum gefundenen Zusammenhängen zwischen Adiponektin und Geburtsgewicht bzw. dem Reifealter in Tagen lassen sich solche Korrelationen in der fetalen IGFBP-2-Serumkonzentration nicht nachweisen. Jedoch besteht ein signifikanter Zusammenhang zwischen der fetalen IGFBP-2-Serumkonzentration und dem mütterlichen BMI (Abb. 5.6-a & b und Tab. 5.14). Dabei liegen die IGFBP-2-Werte höher, wenn der BMI der Mutter niedriger ist. Dieser Zusammenhang lässt sich sowohl für den BMI vor der Schwangerschaft als auch mit dem BMI zur Geburt nachweisen.

Andere Parameter wie Kopfumfang, Brustumfang, biparietaler Durchmesser oder Parameter, die den Adaptationszustand des Neugeborenen beschreiben, weisen keine Korrelationen mit der fetalen IGFBP-2-Serumkonzentration auf. Weiterhin zeigte sich eine signifikante Korrelation zwischen dem Fetalgewicht-zu-Plazentagewicht-Index und der fetalen IGFBP-2-Serumkonzentration (Abb. 5.6-c).

Tab. 5.14 – Abhängigkeitsanalyse der fetalen IGFBP-2-Serumkonzentrationen mit den erhobenen klinischen Daten. Dargestellt ist der Spearman Rangkoeffizient, der Korrelationskoeffizient für mind. ordinale Werte U-Wilcoxon-Mann-Whitney Test „p“, der Kruskal-Wallis Test bei >2 möglichen Stichproben und der Korrelationskoeffizient für metrische Werte Pearson „r“.

Kriterium	Spearman R^2	p-Wert
APGAR 1	-0,118	0,621
APGAR 5	-0,424	0,063
APGAR 10	-0,403	0,078
Kriterium	U-Wilcoxon-Mann-Whitney Test	p-Wert
Nikotinkonsum	18,0	0,479
Alkoholkonsum	17,0	0,574
Kriterium	Kruskal-Wallis Test	p-Wert
Gewichtsstatus	2,007	0,386
Blutgruppe	1,082	0,935
Kriterium	Pearson r	p-Wert
Geburtsgewicht	0,140	0,568
Geburtslänge	0,196	0,422
Kopfumfang	0,087	0,739
Brustumfang	0,255	0,340
Biparietaler Durchmesser	0,102	0,708
Plazentagewicht	-0,238	0,342
Fetalgewicht-zu-Plazentagewicht-Index	0,536	0,027 *
Reifealter in Tagen	0,342	0,152
Alter der Mutter	-0,321	0,167
Gewicht der Mutter vor SS	0,434	0,072
Gewicht der Mutter zur Geburt	-0,446	0,063
Körperlänge der Mutter	0,246	0,296
BMI vor SS	-0,480	0,044 *
BMI zur Geburt	-0,500	0,035 *
Hb der Mutter	0,027	0,925
Hk der Mutter	-0,011	0,971
maternale Thrombozyten	-0,053	0,864
maternales CrP	0,100	0,745

* ist auf dem Niveau $p=0,05$ signifikant

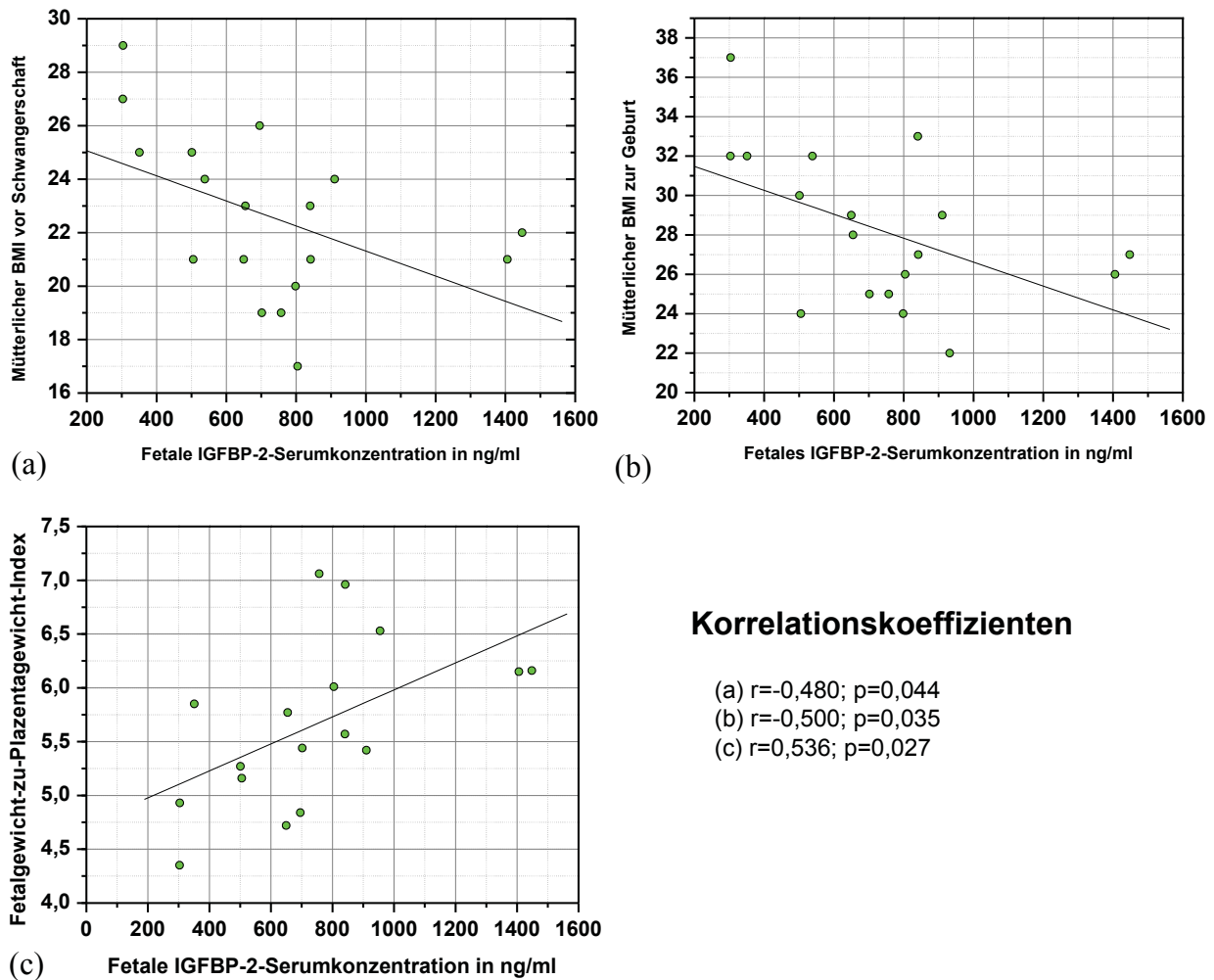


Abb. 5.6 – Korrelation zwischen der fetalen IGFBP-2-Serumkonzentration und (a) dem mütterlichen BMI vor Schwangerschaft (b) dem mütterlichen BMI zur Geburt bzw. (c) der Fetalgewicht-zu-Plazentagewicht-Index.

5.1.6 Korrelation der Adiponektinkonzentration und der IGFBP-2-Konzentration im mütterlichen Serum sowie im Nabelschnurblut

Ob zwischen Adiponektin und IGFBP-2 Zusammenhänge bestehen bzw. ob sie sich gegenseitig beeinflussen, ist Gegenstand folgender Korrelationsanalysen. In Abbildung 5.7 werden die Untersuchungen graphisch dargestellt. Zum einen werden die Konzentrationen von Adiponektin und IGFBP-2 im mütterlichen Serum korreliert, zum anderen werden die Serumkonzentrationen des Adiponektins und des IGFBP-2 im Nabelschnurblut auf Zusammenhänge untersucht. Welchen Einfluss die mütterliche Adiponektin-Serumkonzentration auf

die IGFBP-2-Konzentration im Nabelschnurblut hat, wird ebenso mittels Korrelationsanalyse untersucht, wie auch ein möglicher Zusammenhang zwischen der IGFBP-2-Konzentration im Serum der Mütter und der Adiponektinkonzentration im Nabelschnurblut.

Bei diesen Untersuchungen kann ein signifikanter Zusammenhang zwischen der mütterlichen Adiponektin-Serumkonzentration und der fetalen IGFBP-2-Serumkonzentration nachgewiesen werden. Dabei sind hohe IGFBP-2-Konzentrationen im Nabelschnurblut mit hohen Adiponektinkonzentrationen im mütterlichen Serum assoziiert. Die graphische Darstellung

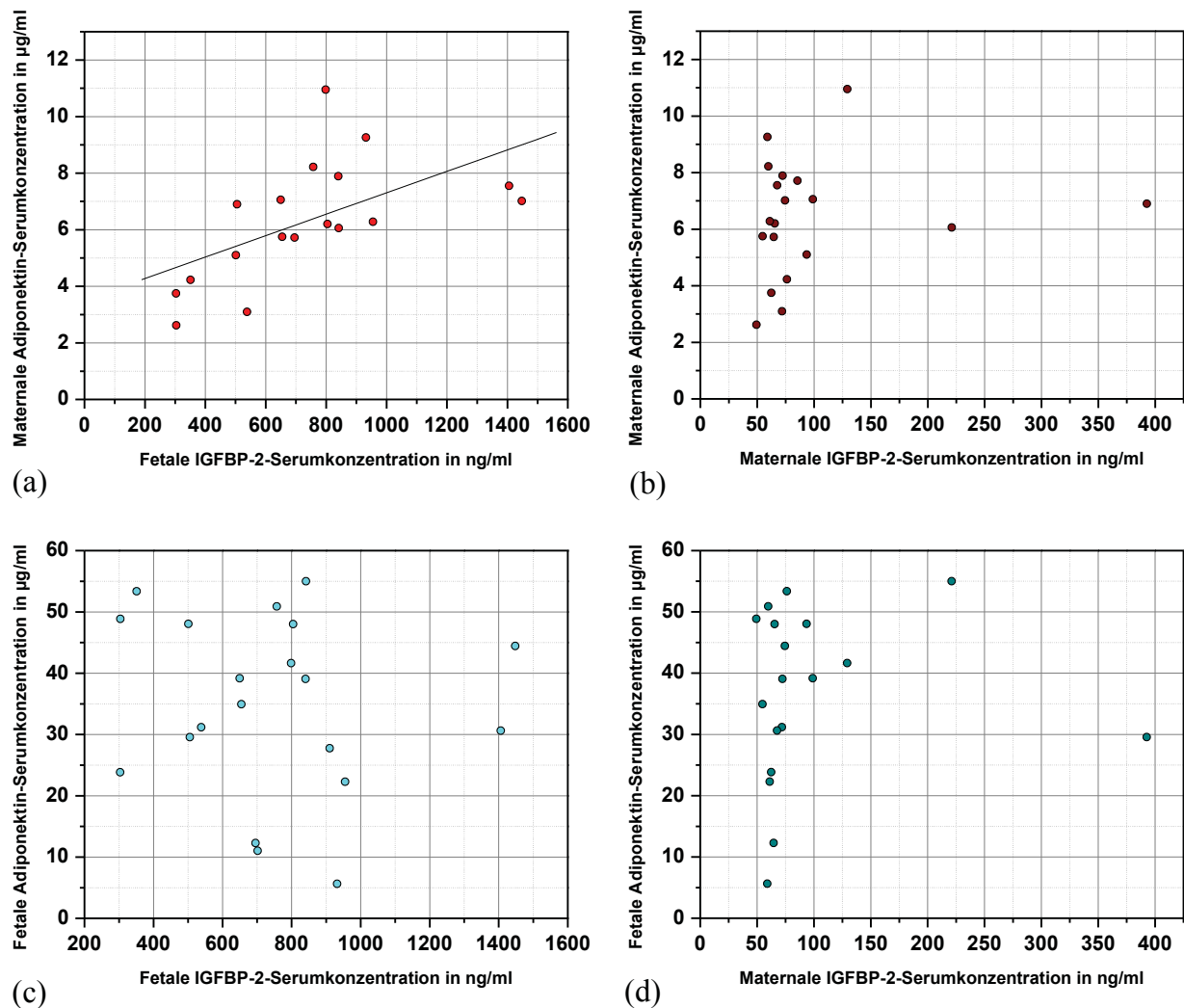


Abb. 5.7 – Graphische Darstellung der Korrelation von (a) Adiponektin im mütterlichen Serum und der Konzentration von IGFBP-2 im fetalen Serum ($r=0,575$; $p<0,05$), (b) Adiponektin und IGFBP-2 im mütterlichen Serum ($r=0,145$; $p=0,553$), (c) Adiponektin und IGFBP-2 im Nabelschnurblut ($r=0,114$; $p=0,632$) bzw. (d) IGFBP-2 im mütterlichen Serum und der Konzentration von Adiponektin im fetalen Serum ($r=0,079$; $p=0,756$).

ist in Abbildung 5.7-a gezeigt.

Ein Zusammenhang der Wachstumsparameter Adiponektin und IGFBP-2 kann im mütterlichen Serum nicht beschrieben werden. Wie in Abbildung 5.7-b zu erkennen ist, bleiben die IGFBP-2-Konzentrationen bei höheren Adiponektinkonzentrationen nahezu konstant. In Abbildung 5.7-c wird das Verhältnis von Adiponektin und IGFBP-2 im fetalen Serum dargestellt. Auf eine geschlechtliche Unterteilung wird aufgrund des nicht signifikanten Unterschiedes im weiblichen und männlichen Serum verzichtet. Hier zeigt sich, dass kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Adiponektin- und der IGFBP-2-Serumkonzentration besteht.

Die mütterliche Adiponektinkonzentration zeigt einen signifikanten Zusammenhang mit der fetalen IGFBP-2-Serumkonzentration. Abbildung 5.7-d zeigt, dass kein signifikanter Zusammenhang zwischen der IGFBP-2-Konzentration im mütterlichen Serum und der Adiponektinkonzentration im Nabelschnurblut besteht.

Abschnitt 5.2

Darstellung der Genexpression in Plazenten

5.2.1 Verteilung der Einzelwerte

Als möglicher Bildungsort der im Serum vorhandenen Proteine Adiponektin und IGFBP-2 wird die Plazenta auf ihre mRNA für Adiponektin und IGFBP-2 analysiert. Wie aus Tabelle 5.15 deutlich wird, kann in acht von 22 Plazenten die Genexpression von Adiponektin nachgewiesen werden. Eine Genexpression von IGFBP-2 ist hingegen in allen 22 Plazenten vorhanden. Der Wert, mit denen die Genexpression angegeben wird, ist wie in Abschnitt 4.4.2 beschrieben, das Verhältnis der cDNA-Menge der zu untersuchenden Probe zur cDNA-Menge einer Referenzzelllinie. Die Werte sind daher dimensionslos.

Die Mittelwerte zeigen deutlich, dass die Genexpression von Adiponektin mit $2,6 \times 10^{-5}$ ($0,793-5,29 \times 10^{-5}$) im Vergleich zu der von IGFBP-2 mit 4,14 (1,29-10,22) um ein Vielfaches niedriger liegt. Dieser Unterschied ist auf dem Niveau $p < 0,01$ signifikant. In Abbildung 5.8 ist die Expression der mRNA von Adiponektin und IGFBP-2 graphisch dargestellt.

Tab. 5.15 – Darstellung der Genexpression in Plazenten anhand der Mittelwerte für Adiponektin und IGFBP-2, weiterhin sind kleinster und größter Wert angegeben.

Genexpression	Mittelwert	exprimierender Plazenten	
Adiponektin	$2,6 \times 10^{-5}$ ($0,793-5,29 \times 10^{-5}$)	8	22
IGFBP-2	4,14 (1,29-10,22)	22	22

5.2.2 Vergleich geschlechtsspezifischer Unterschiede der Adiponektin- und IGFBP-2 Genexpression

Zur Betrachtung möglicher Unterschiede in der Genexpression von Plazenten aufgrund des Geschlechtes wird mittels U-Wilcoxon-Mann-Whitney Test die Adiponektin- und IGFBP-2-Genexpression bei Mädchen und Jungen untersucht. Von den acht Plazenten, die Adiponektin exprimierten, gehörten 3 zu weiblichen und 5 zu männlichen Neugeborenen. Die niedrigen Fallzahlen erlauben keine Aussage über einen signifikanten Unterschied (Tabelle 5.16).

Die IGFBP-2-Genexpression der Plazenta erfolgte bei allen 12 weiblichen und allen 10

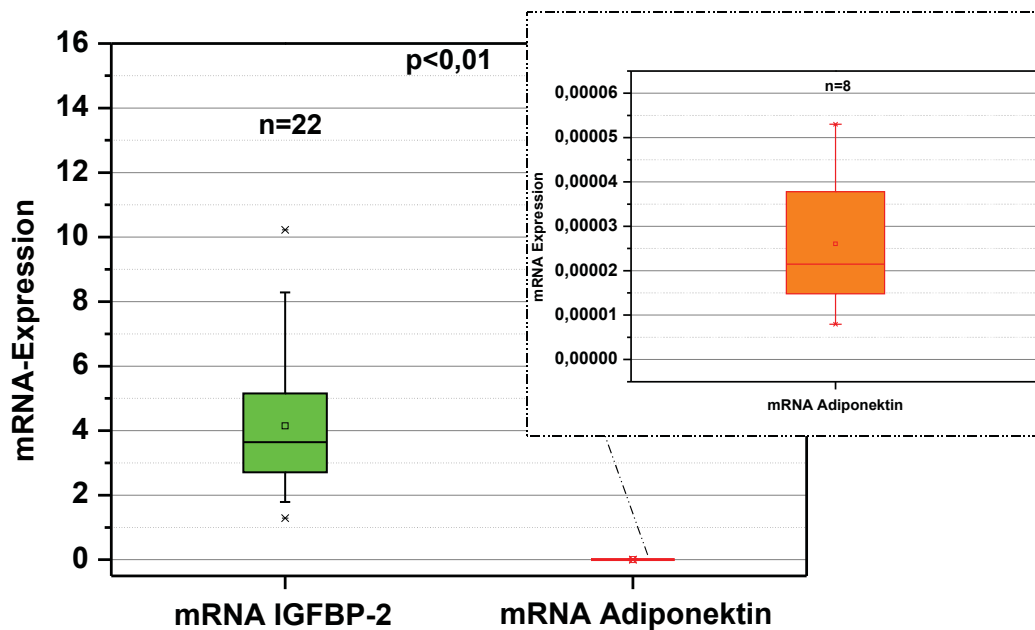


Abb. 5.8 – Expression der IGFBP-2 und Adiponektin-mRNA in Plazenten.

Tab. 5.16 – Geschlechtsspezifische Unterschiede in der Genexpression von Adiponektin bei weiblichen und männlichen Neugeborenen. Dargestellt sind der Median, sowie der größte und der kleinste Wert (UWMW-Test \Leftrightarrow U-Wilcoxon-Mann-Whitney Test).

Genexpression	♀ (n=3)	♂ (n=5)	UWMW-Test
Adiponektin	$1,89 \times 10^{-5}$ ($1,47-2,15 \times 10^{-5}$)	$3,06 \times 10^{-5}$ ($0,79-5,29 \times 10^{-5}$)	p=0,786

männlichen Neugeborenen. Hier kann kein signifikanter Unterschied in der Genexpression bezüglich des Geschlechtes nachgewiesen werden (Tabelle 5.17).

Tab. 5.17 – Geschlechtsspezifische Unterschiede in der Genexpression von IGFBP-2 bei weiblichen und männlichen Neugeborenen. Dargestellt sind der Mittelwert, sowie das Minimum und Maximum.

Genexpression	♀ (n=12)	♂ (n=10)	t-Test
IGFBP-2	2,99 (1,79-4,48)	3,45 (2,15 - 5,15)	p=0,107

5.2.3 Korrelation der Adiponektinexpression und der IGFBP-2-Expression in der Plazenta

Die Genexpressionen von Adiponektin und IGFBP-2 werden gegenüber gestellt und korreliert, um zu untersuchen, ob ein Zusammenhang zwischen der Expression von Adiponektin-mRNA und IGFBP-2-mRNA besteht. Nach entsprechender Analyse kann kein Zusammenhang zwischen den beiden Genen ermittelt werden, siehe Abbildung 5.9.

5.2.4 Zusammenhang zwischen Adiponektin- und IGFBP-2-mRNA-Expression in der Plazenta und den erhobenen klinischen Daten von Müttern und Neugeborenen

Weiterhin wird mittels Abhängigkeitsanalyse der Zusammenhang zwischen der Genexpression von Adiponektin bzw. von IGFBP-2 in der Plazenta auf den mütterlichen oder fetalen Organismus untersucht. Zur Betrachtung dieser möglichen gegenseitigen Einflussnahme werden die unter Abschnitt 5.1.4 beschriebenen klinischen Parameter herangezogen. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 5.18 und 5.19 dargestellt und zeigen keinen signifikanten

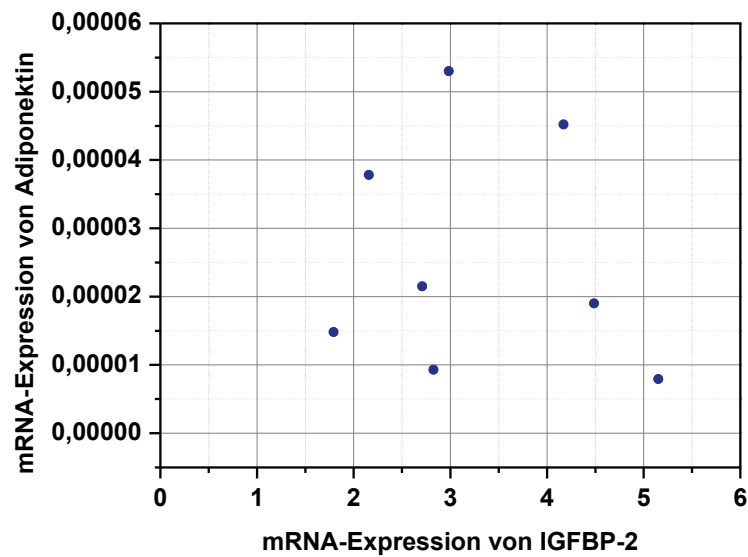


Abb. 5.9 – Graphische Darstellung der Korrelationsanalyse zwischen der Genexpression von Adiponektin und IGFBP-2 in humanen Plazenten ($r=-0,139$; $p=0,743$).

Zusammenhang. Mögliche Zusammenhänge zwischen Nikotin- und Alkoholkonsum konnten aufgrund der geringen Fallzahl (Nikotin- und Alkoholkonsum jeweils $n=4$) nicht näher betrachtet werden.

Tab. 5.18 – Abhängigkeitsanalyse der Adiponektin-mRNA in Plazenten mit den erhobenen klinischen Daten. Dargestellt ist der Spearman Rangkoeffizient, der Korrelationskoeffizient für mind. ordinale Werte U-Wilcoxon-Mann-Whitney Test „p“, der Kruskal-Wallis Test bei >2 möglichen Stichproben und der Korrelationskoeffizient für metrische Werte Pearson „r“.

Kriterium	Spearman R ²	p-Wert
APGAR 1	0,082	0,847
APGAR 5	0,143	0,735
APGAR 10	0,143	0,735
Kriterium	U-Wilcoxon-Mann-Whitney Test	p-Wert
Nikotinkonsum	4,0	0,643
Alkoholkonsum	15,0	0,095
Kriterium	Kruskal-Wallis Test	p-Wert
Gewichtsstatus	0,643	0,819
Blutgruppe	3,857	0,356
Kriterium	Pearson r	p-Wert
Geburtsgewicht	0,157	0,711
Geburtslänge	0,430	0,288
Kopfumfang	0,275	0,550
Brustumfang	-0,062	0,894
Biparietaler Durchmesser	0,580	0,172
Plazentagewicht	0,199	0,637
Fetalgewicht-zu-Plazentagewicht-Index	-0,437	0,279
Reifealter in Tagen	-0,722	0,067
Alter der Mutter	0,565	0,144
Gewicht der Mutter vor SS	-0,484	0,272
Gewicht der Mutter zur Geburt	-0,517	0,235
Körperlänge der Mutter	-0,044	0,917
BMI vor SS	-0,460	0,299
BMI zur Geburt	-0,272	0,555
Hb der Mutter	0,512	0,299
Hk der Mutter	0,355	0,645
maternale Thrombozyten	-0,324	0,676
maternales CrP	0,898	0,102

Tab. 5.19 – Abhängigkeitsanalyse der IGFBP-2-mRNA in Plazenten mit den erhobenen klinischen Daten. Dargestellt ist der Spearman Rangkoeffizient, der Korrelationskoeffizient für mind. ordinale Werte U-Wilcoxon-Mann-Whitney Test „p“, der Kruskal-Wallis Test bei >2 möglichen Stichproben und der Korrelationskoeffizient für metrische Werte Pearson „r“.

Kriterium	Spearman R ²	p-Wert
APGAR 1	0,145	0,516
APGAR 5	-0,197	0,381
APGAR 10	-0,264	0,235
Kriterium	U-Wilcoxon-Mann-Whitney Test	p-Wert
Nikotinkonsum	18,0	0,356
Alkoholkonsum	24,0	0,494
Kriterium	Kruskal-Wallis Test	p-Wert
Gewichtsstatus	2,531	0,297
Blutgruppe	0,995	0,910
Kriterium	Pearson r	p-Wert
Geburtsgewicht	-0,034	0,883
Geburtslänge	-0,021	0,925
Kopfumfang	-0,017	0,944
Brustumfang	-0,143	0,572
Biparietaler Durchmesser	0,091	0,727
Plazentagewicht	0,128	0,579
Fetalgewicht-zu-Plazentagewicht-Index	-0,129	0,588
Reifealter in Tagen	0,232	0,310
Alter der Mutter	0,346	0,115
Gewicht der Mutter vor SS	0,220	0,338
Gewicht der Mutter zur Geburt	0,086	0,726
Körperlänge der Mutter	-0,376	0,085
BMI vor SS	0,316	0,163
BMI zur Geburt	0,300	0,211
Hb der Mutter	-0,016	0,952
Hk der Mutter	0,099	0,725
maternale Thrombozyten	-0,082	0,772
maternales CrP	-0,092	0,745

mRNA-Expression in mütterlichen und fetalen mononukleären Zellen

5.3.1 Beschreibung der Einzelwerte

Neben der Plazenta werden auch mononukleäre Zellen (MNC) als möglicher Bildungsort für Adiponektin und IGFBP-2 untersucht. Unsere Untersuchung der mRNA in mononukleären Zellen mittels Realtime-PCR kann keine Genexpression für Adiponektin nachweisen. Weder mütterliche noch fetale Lymphozyten und Monozyten exprimieren dieses Protein.

Allerdings kann mit derselben Methode eine Genexpression von IGFBP-2 sowohl in mütterlichen als auch in fetalen mononukleären Zellen gefunden werden. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 5.20 und 5.21 sowie in Abbildung 5.10 dargestellt. Hier lässt sich ein signifikanter Unterschied in der Genexpression zwischen fetalen und mütterlichen mononukleären Zellen nachweisen, wobei die fetale IGFBP-2-Expression mit 0,145 (0,070-0,449) um ein Vielfaches höher liegt als die der mütterlichen Zellen mit 0,022 (0,001-0,085). Einen Hinweis auf einen geschlechtsspezifischen Unterschied in fetalen MNC lässt sich nicht finden.

Tab. 5.20 – Darstellung der Genexpression in mütterlichen und fetalen MNC anhand der Mittelwerte sowie Minimum und Maximum für IGFBP-2.

Genexpression	Mütterliche MNC (n=20)	Fetale MNC (n=23)	t-Test
IGFBP-2	0,022 (0,001-0,085)	0,145 (0,070-0,449)	p=0,001 *

* ist auf dem Niveau p=0,05 signifikant

Tab. 5.21 – Darstellung der IGFBP-2-mRNA-Expression in fetalen MNC bei weiblichen und männlichen Neugeborenen anhand des Mittelwertes sowie Minimum und Maximum.

Genexpression	♀ MNC (n=13)	♂ MNC (n=10)	t-Test
IGFBP-2	0,146 (0,070-0,449)	0,144 (0,070-0,237)	p=0,839

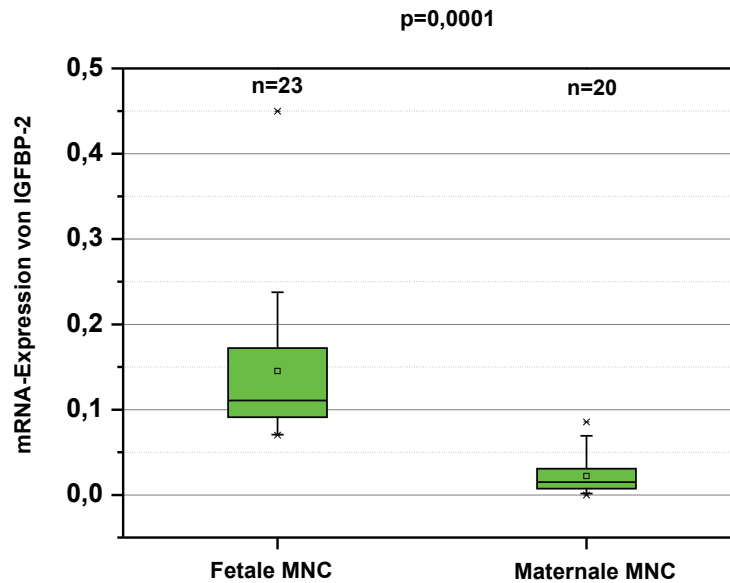


Abb. 5.10 – Darstellung der IGFBP-2-mRNA-Expression in kindlichen und mütterlichen MNC.

5.3.2 Zusammenhänge der IGFBP-2-mRNA-Expression in mononukleären Zellen und den erhobenen klinischen Parametern

Zusammenhang zwischen den klinischen Parametern und der IGFBP-2-Expression mütterlicher mononukleärer Zellen

Ein Einfluss auf die IGFBP-2-Expression in mütterlichen Lymphozyten und Monozyten, bzw. deren Einfluss auf die von uns erhobenen Parameter, kann mittels Abhängigkeitsanalyse für das mütterliche Gewicht zur Geburt nachgewiesen werden (Tab. 5.22), wobei ein niedrigeres Gewicht mit einer höheren Genexpression korreliert (Abb. 5.11). Weitere Zusammenhänge lassen sich nicht finden.

Tab. 5.22 – Abhängigkeitsanalyse der IGFBP-2-mRNA in mütterlichen MNC mit den erhobenen klinischen Daten. Dargestellt ist der Korrelationskoeffizient für mind. ordinale Werte U-Wilcoxon-Mann-Whitney Test „p“, der Kruskal-Wallis Test bei >2 möglichen Stichproben und der Korrelationskoeffizient für metrische Werte Pearson „r“.

Kriterium	U-Wilcoxon-Mann-Whitney Test	p-Wert
Nikotinkonsum	25,0	0,386
Alkoholkonsum	30,0	0,557
Kriterium	Kruskal-Wallis Test	p-Wert
Gewichtsstatus	2,045	0,382
Blutgruppe	5,574	0,233
Kriterium	Pearson r	p-Wert
Geburtsgewicht	-0,200	0,412
Geburtslänge	0,142	0,562
Kopfumfang	0,314	0,205
Brustumfang	-0,195	0,469
Biparietaler Durchmesser	-0,427	0,112
Plazentagewicht	0,023	0,925
Fetalgewicht-zu-Plazentagewicht-Index	-0,229	0,361
Reifealter in Tage	-0,277	0,251
Alter der Mutter	0,065	0,787
Gewicht der Mutter vor SS	0,247	0,271
Gewicht der Mutter zur Geburt	-0,587	0,013 *
Gewichtszunahme während SS	-0,052	0,848
Körperlänge der Mutter	0,227	0,335
BMI vor SS	0,373	0,127
BMI zur Geburt	-0,474	0,055
Hb der Mutter	-0,503	0,056
Hk der Mutter	-0,486	0,078
maternale Thrombozyten	0,074	0,802
maternales CrP	-0,251	0,387

* ist auf dem Niveau $p=0,05$ signifikant

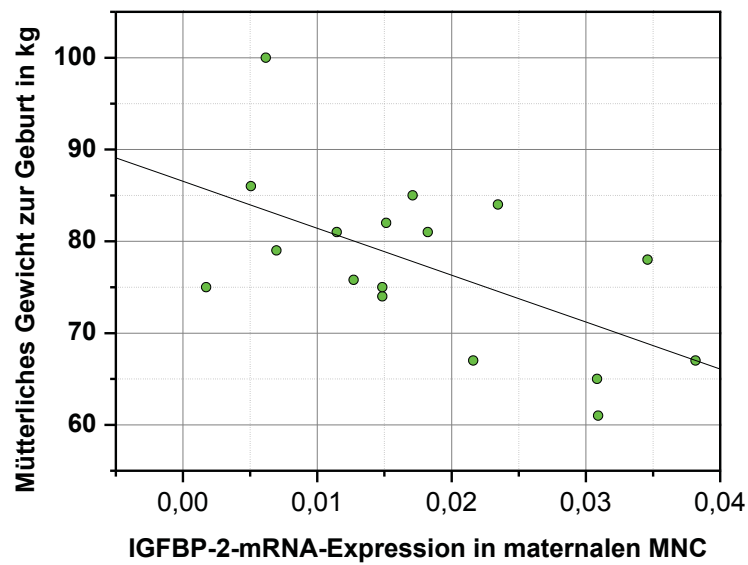


Abb. 5.11 – Korrelation zwischen der IGFBP-2-mRNA-Expression in maternalen MNC und dem mütterlichen Gewicht zur Geburt ($r=0,587$; $p=0,013$).

Zusammenhang der klinischen Parameter und der IGFBP-2-Expression fetaler mononukleärer Zellen

Die Korrelationsanalyse der fetalen IGFBP-2-mRNA-Expression kann keinen signifikanten Zusammenhang mit den von uns erhobenen klinischen Parametern zeigen (Tab. 5.23).

Tab. 5.23 – Abhängigkeitsanalyse der IGFBP-2-mRNA fetaler MNC mit den erhobenen klinischen Daten. Dargestellt ist der Spearman Rangkoeffizient, der Korrelationskoeffizient für mind. ordinale Werte U-Wilcoxon-Mann-Whitney Test „p“, der Kruskal-Wallis Test bei >2 möglichen Stichproben und der Korrelationskoeffizient für metrische Werte Pearson „r“.

Kriterium	Spearman R^2	p-Wert
APGAR 1	-0,196	0,371
APGAR 5	-0,064	0,772
APGAR 10	-0,087	0,693
Kriterium	U-Wilcoxon-Mann-Whitney Test	p-Wert
Nikotinkonsum	23,0	0,250
Alkoholkonsum	24,0	0,494
Kriterium	Kruskal-Wallis Test	p-Wert
Gewichtsstatus	0,288	0,878
Kriterium	Pearson r	p-Wert
Geburtsgewicht	-0,151	0,502
Geburtslänge	0,146	0,518
Kopfumfang	0,276	0,238
Brustumfang	-0,003	0,991
Biparietaler Durchmesser	-0,188	0,471
Plazentagewicht	0,284	0,278
Fetalgewicht-zu-Plazentagewicht-Index	-0,360	0,119
Reifealter in Tagen	-0,283	0,201
Alter der Mutter	-0,019	0,930
Gewicht der Mutter vor SS	0,145	0,532
Gewicht der Mutter zur Geburt	-0,168	0,478
Körperlänge der Mutter	0,067	0,763
BMI vor SS	0,140	0,544
BMI zur Geburt	-0,267	0,255
Hb der Mutter	-0,066	0,794
Hk der Mutter	-0,088	0,745
maternale Thrombozyten	-0,146	0,590
maternales CrP	-0,147	0,586

5.3.3 Zusammenfassende Darstellung der mRNA-Expression von Adiponektin und IGFBP-2 in Plazenten, mütterlichen und fetalen mononukleärer Zellen

In Abbildung 5.12 werden die mRNA-Expressionen von Adiponektin und IGFBP-2 zusammenfassend dargestellt. Es zeigt sich, dass IGFBP-2 in der Plazenta gebildet wird. Es konnte zwar auch eine geringe Adiponektin-Expression nachgewiesen werden, allerdings befindet sich diese in einem kaum messbaren Bereich. Für die mütterlichen und fetalen mononukleären Zellen zeigte sich nur für IGFBP-2 eine mRNA-Expression. Die mRNA-Expression ist dabei in der Plazenta höher. Insgesamt war die Genexpression für IGFBP-2 in allen untersuchten Zellen entscheidend höher als die Genexpression von Adiponektin. Desweiteren kann gezeigt werden, dass in fetalen Lymphozyten und Monozyten eine höhere Menge IGFBP-2-mRNA gebildet wird als in mütterlichen.

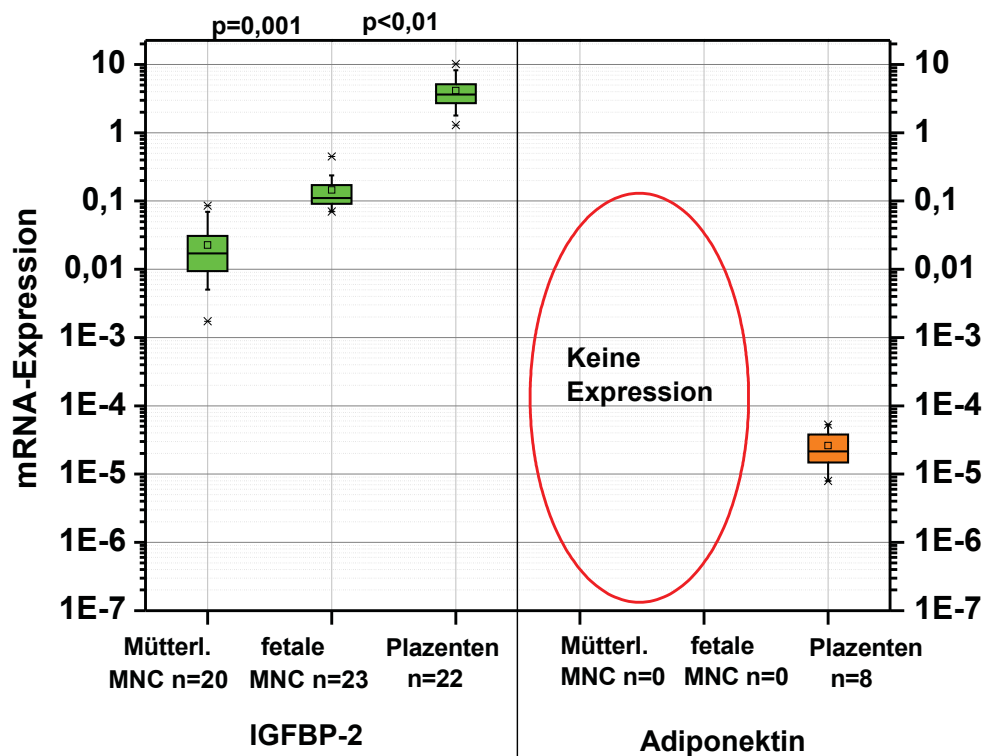


Abb. 5.12 – Zusammenfassende Darstellung der mRNA-Expression von IGFBP-2 in fetalen und mütterlichen mononukleären Zellen sowie im Plazentagewebe.

Abschnitt 5.4

Gegenüberstellung der Serumkonzentrationen und der Genexpressionen

Ob die Genexpression in der Plazenta bzw. in den mononukleären Zellen einen entscheidenden Beitrag an der Serumkonzentration von Adiponektin und IGFBP-2 hat und welchen Einfluss die Genexpression auf die Serumkonzentration ausübt, wird in den folgenden Abschnitten dargestellt.

5.4.1 Korrelationen zwischen den Serumkonzentrationen Adiponektin und der untersuchten Genexpression in Plazenten und mononukleären Zellen

Da keine Adiponektin-Genexpression in mütterlichen und fetalen Lymphozyten nachweisbar ist, kann an dieser Stelle nur ein möglicher Zusammenhang zwischen der Genexpression in der Plazenta und der Adiponektinkonzentration in maternalem und fetalem Serum untersucht werden. In Tabelle 5.24 zeigt sich, dass keine signifikante Korrelation zwischen diesen untersuchten Proben besteht.

Tab. 5.24 – Korrelation der Adiponektin-Konzentration im mütterlichen und fetalen Serum und der Adiponektin-Genexpression in Plazenten. Dargestellt sind die „r“-Werte nach Pearson.

Adiponektin Serumkonzentration	Adiponektin-Genexpression Plazenta	p-Wert
Mütter	-0,029	0,951
Neugeborene	-0,536	0,171

5.4.2 Korrelation der IGFBP-2-Serumkonzentration und der Genexpression in Plazenten und mononukleären Zellen

Sowohl alle untersuchten Plazenten als auch alle Proben der mütterlichen und fetalen MNC exprimieren IGFBP-2. Welchen Anteil diese Expression auf die IGFBP-2-Konzentration im mütterlichen und fetalen Serum hat, wird in Tabelle 5.25 dargestellt. Jedoch kann hier kein

signifikanter Zusammenhang zwischen der plazentaren oder lymphozytären Genexpression und der IGFBP-2-Serumkonzentration nachgewiesen werden.

Tab. 5.25 – Korrelation der IGFBP-2-Serumkonzentration in mütterlichem und fetalem Serum und der IGFBP-2-Genexpression in Plazenten und Lymphozyten. Dargestellt sind die „r“-Werte nach Pearson.

IGFBP-2 Serumkonzentration	IGFBP-2-Genexpression Plazenta	p-Wert
Mütter	-0,332	-0,193
Neugeborene	-0,261	0,280
IGFBP-2 Serumkonzentration	IGFBP-2-Genexpression mütterlicher MNC	p-Wert
Mütter	0,103	0,694
Neugeborene	-0,050	0,835
IGFBP-2 Serumkonzentration	IGFBP-2-Genexpression fetaler MNC	p-Wert
Mütter	-0,094	0,712
Neugeborene	-0,014	0,953

Abschnitt 5.5

Korrelation der IGFBP-2-mRNA-Expression in Plazenten und mononukleären Zellen

Als physiologische Barriere besteht zwischen der Plazenta, dem mütterlichen und dem fetalen Organismus ein direkter Kontakt. Inwieweit ein möglicher Zusammenhang zwischen der IGFBP-2-mRNA-Expression in der Plazenta und der in mütterlichen und fetalen mononukleären Zellen besteht, wird mittels Korrelationsanalyse untersucht. Die Ergebnisse sind in Abbildung 5.13-a und Abbildung 5.13-b dargestellt. Hierbei ergeben sich keine signifikanten Korrelationen.

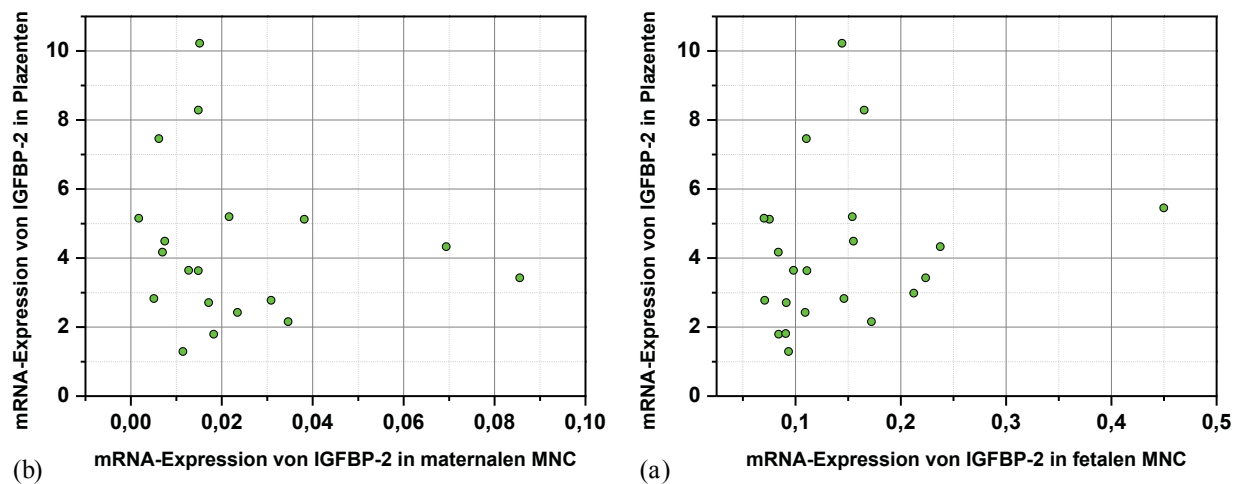


Abb. 5.13 – Graphische Darstellung der Korrelation von (a) IGFBP-2-mRNA-Expression in Plazenten und mütterlichen mononukleären Zellen ($r=0,151$; $p=0,537$) und (b) IGFBP-2-mRNA-Expression in Plazenten und fetalen mononukleären Zellen ($r=0,191$; $p=0,369$).

Diskussion

Abschnitt 6.1

Das Verhalten der Adiponektin-Serumkonzentrationen

6.1.1 Adiponektin im mütterlichen Serum und dessen Einfluss auf das fetale Wachstum

Adiponektin in der Schwangerschaft

Die Schwangerschaft führt physiologisch im mütterlichen Organismus zu einer insulinresistenten Stoffwechsellage. Dies geschieht zum Zwecke einer ausreichenden Glukoseversorgung des Feten und erfolgt durch die gesteigerte Synthese von insulinantagonisierenden Zytokinen und Hormonen wie TNF- α , Östrogenen, Prolaktin, Glukkokortikoiden und IL-6. Der Zustand der Insulinresistenz, wie er auch beim Diabetes mellitus herrscht, ist nachweislich vergesellschaftet mit einer Erniedrigung der Adiponektinkonzentrationen (Hajer 2008). Ebenso führen TNF- α , IL-6 und Östrogen zu einer Reduzierung der Adiponektinwerte (Kamon 2004, Fasshauer 2003). Daher ist zu erwarten, dass die Schwangerschaft zu reduzierten Adiponektinkonzentrationen im weiblichen Serum führt. Tatsächlich lässt sich aber diese Schlussfolgerung nicht eindeutig belegen. Zwar konnten Arbeiten von Catalano und O'Sullivan auch bei gesunden Schwangeren niedrigere Adiponektin-Serumwerte im Vergleich zu Nichtschwangeren finden (Catalano 2006, O'Sullivan 2006), jedoch zeigen weitere Arbeiten mit zum Teil größeren Fallzahlen, dass keine Veränderung in der Serumkonzentration von Adiponektin während einer regelrechten Schwangerschaft auftritt (Cortelazzi 2007, Nien 2007, Ichida 2007).

In dem von uns untersuchten Kollektiv von gesunden Schwangeren lagen die Serumwerte von Adiponektin im Mittel bei 6,38 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Verglichen mit den Serumwerten von Nichtschwangeren, die mit 7,39 $\mu\text{g}/\text{ml}$ für Frauen zwischen 20 und 30 Jahren vom Hersteller des ELISA (mediagnost®) angegeben werden, zeigt sich, dass kein signifikanter Unterschied zwischen Nichtschwangeren und Schwangeren zum Geburtstermin besteht. Damit lassen sich unserer Ergebnisse in die aktuelle Diskussion integrieren und zeigen, dass in einer regelrechten Schwangerschaft die Adiponekinproduktion bzw. -sekretion trotz der veränderten Stoffwechsellage unbeeinflusst bleibt. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass zusätzlich zu den

oben beschriebenen Mechanismen, die zu Insulinresistenz und Hypoadiponektinämie führen, Vorgänge existieren, die im Organismus während der Schwangerschaft zur metabolischen Homöostase führen. Ergänzend zu dieser Aussage lassen sich Arbeiten aufführen, die das Verhalten der maternalen Serumwerte bei pathologischen und regelrechten Schwangerschaften vergleichen. Dabei zeigt sich, dass Erkrankungen wie Gestationsdiabetes oder Präeklampsie im maternalen Serum zu signifikant niedrigeren Adiponektin-Serumwerten als bei gesunden Schwangeren führen (Mazaki-Tovi 2009, Cortelazzi 2007, Sokeillykhah 2009, Cseh 2004, Ichida 2007, Retnakaran 2007, Weerakiet 2006).

Mütterliches Adiponektin als Einflussfaktor auf fetales Wachstum

Erkrankungen während der Schwangerschaft haben für das fetale Wachstum Konsequenzen. Eine Retardierung des Feten und/oder eine vorzeitige Geburt erhöhen beim Neugeborenen die Morbidität und Mortalität und stellen das Hauptproblem in der modernen Geburtshilfe und Neonatologie dar. Daher ist es von Interesse, Marker zu finden, die auf das Risiko einer IUGR bzw. einer Frühgeburt hinweisen. Adiponektin wird als ein solch möglicher Marker kontrovers diskutiert. Neben Arbeiten, die belegen, dass die maternale Serumkonzentration von Adiponektin bei Müttern, die IUGR-Kinder gebären signifikant niedriger liegt als bei Müttern von AGA-Kindern, konnte weiterhin gezeigt werden, dass die erniedrigten maternalen Adiponektinwerte bei GDM in negativer Korrelation zum Gestationsalter stehen (Kyriakakou 2008, Weerakiet 2006). Außerdem fanden sich auch bei gesunden Schwangeren Hinweise auf einen negativen Zusammenhang zwischen maternalen Adiponektinwerten und Gestationsalter sowie Geburtsgewicht (Nien 2007, Verhaeghe 2006, Ong 2007, Cseh 2004). Aufgrund dieser Ergebnisse soll in dieser Arbeit untersucht werden, welchen Einfluss das maternale Adiponektin auf die Entwicklung des Feten nimmt. Dazu wurden Korrelationsanalysen zwischen der maternalen Adiponektinkonzentration und kindlichen Parametern, wie Geburtsgewicht, Gestationsalter, Körperlänge, Brustumfang, Kopfumfang und biparietaler Durchmesser durchgeführt. Da die Plazenta die Voraussetzung für ein adäquates Wachstum bildet und in direkter Verbindung mit der fetalen Entwicklung steht, wurden die maternalen Adiponektinkonzentrationen ebenfalls mit Plazentagewicht, Plazentagröße und dem Fetalgewicht-zu-Plazentagewicht-Index korreliert. Zu keinem der aufgeführten Parameter lässt sich eine Korrelation finden, so dass ein direkter Einfluss des maternalen Adiponektins auf die fetale Wachstumsentwicklung im letzten Trimenon nicht besteht. Auch Arbeiten anderer Gruppen verdeutlichen, dass die mütterliche Adiponektinkonzentration

nicht direkt an den fetalen Wachstumsvorgängen beteiligt ist (Chan 2004, Fasshauer 2007, Sokeillykhah 2009).

Allerdings ist Adiponektin auch im schwangeren Organismus ein Indikator für Insulinresistenz und auf darauf zurückzuführende Krankheitsbilder (Mazaki-Tovi 2009, Cortelazzi 2007, Sokeillykhah 2009, Ichida 2007, Cseh 2004, Retnakaran 2007, Weerakiet 2006). Laut aktuellen Erkenntnissen sind Erkrankungen wie Gestationsdiabetes (GDM) und Präeklampsie durch Veränderungen bedingt, die mit denen des metabolischen Syndroms übereinstimmen. Wie auch im Organismus Nichtschwangerer spielen Körpergewicht, BMI, exogene Noxen wie Alkohol und Nikotin sowie die Ausbildung der Insulinresistenz bei der Entstehung schwangerschaftsbedingter Erkrankungen eine zentrale Rolle (Craici 2008).

Von Interesse ist daher, inwieweit Adiponektin im Zusammenhang mit oben genannten Faktoren steht. In dem hier untersuchten Kollektiv handelte es sich um gesunde Schwangere. Das Körpergewicht vor der Schwangerschaft lag bei 62,94 kg ($\pm 9,54$ kg) und der BMI bei 23 ($\pm 4,11$). Während der Schwangerschaft kam es im Mittel zu einer Gewichtszunahme von 17,04 kg. Dies liegt etwas höher als die physiologisch zu erwartende Gewichtszunahme. Es zeigte sich, dass die Adiponektinkonzentration bei Geburt negativ mit dem Gewicht vor der Schwangerschaft als auch negativ mit dem BMI vor der Schwangerschaft korreliert. Außerdem korrelieren die Adiponektinkonzentrationen zum Zeitpunkt der Geburt negativ mit dem Gewicht und dem BMI zur Geburt. Werden diese Ergebnisse zusammen betrachtet, führt dies zu folgendem Rückschluss. Es gibt einen Zusammenhang zwischen der Adiponektinkonzentration zur Geburt mit dem Gewicht und damit auch mit dem Fettstoffwechsel vor der Schwangerschaft. Entwickelt sich die Schwangerschaft regelrecht, besteht weiterhin ein Zusammenhang zwischen Adiponektin und dem Gewicht. Die Gewichtszunahme durch Fetus, Fruchtwasser, Plazenta, Brustgewebe etc. kann als Differenz des Gewichts zur Geburt und des Gewichts vor Schwangerschaft errechnet werden. Diese Differenz korreliert nicht mit den mütterlichen Adiponektinwerten. Somit erscheint der Zusammenhang zwischen Adiponektin und Körpergewicht unabhängig von der schwangerschaftsbedingten Zunahme. Es muss vermutet werden, dass der mütterliche Adiponektinstoffwechsel, trotz der schon beschriebenen Vorgänge in der gesunden Schwangerschaft, nicht stark beeinflusst wird. Untersuchungen über den Verlauf der Adiponektinkonzentrationen während der Schwangerschaft unter dem Gesichtspunkt der Gewichtszunahme und der Fettmassenzunahme könnten Daten hervorbringen, die einen möglichen Zusammenhang zwischen der Adiponektinkonzentration und dem Risiko, an GDM oder Präeklampsie zu erkranken zeigen.

Vier der 19 Frauen gaben an, während der Schwangerschaft Nikotin konsumiert zu haben

und drei Frauen berichteten über Alkoholkonsum. Dabei lag die Zigarettenzahl zwischen 5-15 Zigaretten pro Tag. Der Alkoholkonsum wurde nur als sporadisch, d.h. 1-5 Gläser Wein oder Sekt während der gesamten Schwangerschaft oder als regelmäßig geringe Mengen von 1 Glas Wein im Monat angegeben. Aus dieser geringen Fallzahl lässt sich keine aussagekräftige Statistik herleiten und eine Interpretation dieser Ergebnisse über eine mögliche Kausalität zwischen Adiponektin und aufgeführten Genussmittel hat aufgrund der Fallzahl rein spekulativen Charakter.

6.1.2 Adiponektin im Nabelschnurblut und dessen Einfluss auf das fetale Wachstum

Fetales Adiponektin als Einflussfaktor im Fetus

In dem von uns untersuchten Kollektiv von 20 Neugeborenen liegen die Adiponektin-Serumkonzentration im Mittel bei 34,88 µg/ml und sind damit signifikant höher als die gefundenen Serumwerte im maternalen Organismus. Damit können unsere Ergebnisse die Arbeiten anderer Arbeitsgruppen bestätigen (Lindsay 2003, Kotani 2004, Sivan 2003, Chan 2004). Auch zeigte sich, wie in der Literatur bereits beschrieben, kein geschlechtsspezifischer Unterschied (Pardo 2004). Weiterhin wurde untersucht, ob die Geburt per Sectio im Vergleich zur spontanen Geburt einen Einfluss auf die Adiponektinkonzentration hat. Dabei stellt sich heraus, dass der Geburtsmodus unerheblich für die Adiponektinkonzentration im Nabelschnurblut ist. Somit ist Adiponektin im Nabelschnurblut bei gesunden Neugeborenen unbeeinflusst von geschlechtsspezifischen Faktoren oder vermehrtem Geburtsstress bei spontaner Geburt. Einen direkten Zusammenhang der Adiponektinkonzentration im Nabelschnurblut auf das fetale Wachstum konnten die in dieser Arbeit erfolgten Analysen zeigen. Dabei wurden die Adiponektinkonzentrationen mit dem Geburtsgewicht, Geburtslänge, Reifealter, biparietaler Durchmesser, Kopfumfang und Brustumfang korreliert. Unser Ergebnis ist, dass die Adiponektinwerte sowohl zum Reifealter als auch zum Geburtsgewicht positiv korrelieren. Dabei konnte nach multivarianter linearer Regressionsanalyse gezeigt werden, dass jeweils Reifealter und Geburtsgewicht unabhängig voneinander mit der Adiponektinkonzentrationen im Nabelschnurblut assoziiert sind. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit den Ergebnissen der Literatur (Pardo 2004, Kotani 2004, Kamoda 2004).

Interessant ist, dass die Abhängigkeit zwischen der Adiponektinkonzentration und dem Gestationsalter unterschiedlich stark ausgeprägt ist. Kajantie et al. berichten, dass eine

starke Korrelation zwischen Adiponektin und dem Gestationsalter insbesondere zwischen der 24. und 32. SSW besteht. Frühgeborene zeigen demnach eine Steigerung der Adiponektinkonzentrationen pro Schwangerschaftswoche von 42 %, wobei sich im Bereich der 37.-40. SSW eine Steigerung von 21 % ergab (Kajantie 2004). Diese Ergebnisse sind darauf zurückzuführen, dass insbesondere im letzten Drittel der Schwangerschaft eine vermehrte Zunahme aller Bindegewebsarten, so auch des Fettgewebes im Feten, erfolgt. Daher sind Frühgeburtlichkeit und IUGR durch eine im Vergleich zu reifen AGA-Kindern niedrigeren Adiponektinspiegel charakterisiert (Ibanez 2008, Siahianidou 2007, Martos-Moreno 2009). Die größeren Streubreiten in den fetalen Adiponektinkonzentrationen zwischen der 37.-40. SSW lassen sich aus der Kenntnis erklären, dass der Hauptanteil der Fettmasse entwickelt ist und die Zunahme langsamer fortschreitet, so dass individuelle Einflüsse stärker auf die Fettgewebsentwicklung wirken.

Während eine Gewichtszunahme im erwachsenen Organismus zu niedrigeren Adiponektin-Serumkonzentrationen führt, steigen die Adiponektinwerte im Feten mit zunehmendem Geburtsgewicht. Diese paradoxe Beobachtung sowie die Tatsache, dass die fetale Adiponektinkonzentrationen um ein vielfaches höher ist als im Serum Erwachsener, führen zu der Annahme, dass Adiponektin im intrauterinen Wachstum eine tragende Rolle einnimmt. Weitere Beobachtungen unterstreichen diese Hypothese. Denn nicht nur die Gewichtszunahme, sondern auch das Gestationsalter steht in positiver Korrelation mit fetalen Adiponektinkonzentrationen. Wie bekannt ist, wird das fetale Wachstum in utero ab der zweiten Schwangerschaftshälfte maßgeblich durch Insulin beeinflusst, während hGH und IGF-I eine untergeordnete Rolle zukommt. Adiponektin könnte eventuell durch seine insulinsensitivierende Funktion als Wachstumsfaktor fungieren oder auch eigenständig wachstumsfördernde Effekte erzielen. Dass Adiponektin bereits in utero insulinsensitivierend wirkt, zeigten Takaya et al, indem sie eine positive Korrelation zwischen Adiponektin und dem quantitative insulin sensitivity check index (QUICKI) im Nabelschnurblut nachwiesen (Takaya 2007).

Es existieren in der Literatur kontroverse Ergebnisse über eine Korrelation zwischen Adiponektin und Insulin (Iniguez 2004, Kotani 2004, Tsai 2004, Sivan 2003). Fehlt ein direkter Zusammenhang zwischen Insulin und Adiponektin könnte das für eigenständige Effekte des Adiponektins im Bezug auf das intrauterine Wachstum sprechen. Bemerkenswert ist weiterhin das Verhältnis zwischen Adiponektin und Körpergewicht im Verlauf der ersten Lebensjahre. Bis zur ersten Lebenswoche unterscheiden sich die Adiponektinwerte nicht von denen Neugeborener zur Geburt (Kotani 2004). Nach dem ersten Lebensmonat konnten Inami et al. sogar eine Zunahme der Adiponektinkonzentrationen zeigen, allerdings herrschte

keine Korrelation mehr zwischen dem kindlichen Gewicht und dem Adiponektin (Inami 2007). Später kommt es zu einer Reduktion der Adiponektinspiegel in den ersten zwei Lebensjahren (Iniguez 2004). Eine Verbindung zwischen Adiponektin und Größen- oder Gewichtszunahme besteht nicht mehr. Damit wird deutlich, dass die erheblich erhöhten Adiponektinkonzentrationen in der Fetalzeit für ein größeres Wirkspektrum in utero als im postpartalen Leben benötigt werden. Der auch in dieser Arbeit gezeigte Zusammenhang zwischen Adiponektin und Gewichtsentwicklung bzw. Reifealter weist dabei auf das Spektrum des fetalen Wachstums hin.

Auch wenn in der vorliegenden Arbeit der Blickpunkt auf die wachstumsfördernden Effekte des Adiponektins gelegt wird, weist der beschriebene Zusammenhang zwischen Adiponektin und Geburtsgewicht auch auf mögliche Pathomechanismen hin, die in der fetalen Programmierung eine Rolle spielen. Wie bekannt ist, wirkt sich ein reduziertes Geburtsgewicht in einem deutlich erhöhten Risiko aus, an Symptomen des metabolischen Syndroms zu erkranken (McCane 1994). Bei einem reduzierten Geburtsgewicht ist insbesondere das braune Fettgewebe vermindert, jenes Gewebe, das aktuell für die erhöhten Adiponektinkonzentrationen im fetalen Organismus als Quelle gesehen wird (Kotani 2004).

Tatsächlich können die in dieser Arbeit erhaltenen Ergebnisse zeigen, dass ein reduziertes Geburtsgewicht mit niedrigeren Adiponektinspiegeln einhergehen. Weitere Studien, die sich insbesondere mit Wachstumsretardierung und Frühgeburtlichkeit beschäftigen, bestätigen unsere Ergebnisse, denn Kinder, deren Geburtsgewicht zu niedrig bzw. die frühgeboren mit altersgemäßen Geburtsgewicht, aber auch mit niedrigem Geburtsgewicht zur Welt gekommen sind, zeigen eine signifikant geringere Adiponektinkonzentration als reifgeborene AGA-Kinder (Kamoda 2004, Ibanez 2008, Siahianidou 2007, Martos-Moreno 2009). Von besonderem Interesse ist darauf aufbauend die Adiponektinkonzentration im weiteren Verlauf des Lebens. Aktuelle Untersuchungen zeigen, dass Kinder zwischen 6 und 15 Jahren, die als SGA geboren sind, niedrigere Werte aufweisen, als AGA-Kinder in diesem Alter (Kamoda 2007, Cianfarani 2004, Ibanez 2008). Jaquet et al. konnten ebenfalls erniedrigte Adiponektinwerte im Serum junger Erwachsener nachweisen, die als SGA geboren worden sind. Die insulinsensitivierende Wirkung ist neben den antiinflammatorischen und vasoprotektiven Eigenschaften des Adiponektins für dessen antidiabetogenen Charakter verantwortlich. Fetale Wachstumsretardierung hat wahrscheinlich nicht nur Auswirkungen auf die Adiponektinkonzentration zur Geburt, sondern auch im weiteren Lebensverlauf und kann daher über diesen Mechanismus Einfluss auf die Entwicklung eines metabolischen Syndroms nehmen.

Fetales Adiponektin als Einflussfaktor auf die Plazentaentwicklung

Als Ernährungsorgan nimmt die Plazenta eine herausragende Stellung für die fetale Entwicklung und insbesondere für das Wachstum ein. Inwieweit die fetalen Adiponektinkonzentrationen in Verbindung mit der Plazentaentwicklung stehen, ist derzeit noch unklar und wird kontrovers diskutiert. Während Kadowaki einen positiven Zusammenhang zwischen fetalem Adiponektin und dem Fetalgewicht-zu-Plazentagewicht-Index zeigen konnte, verneinen die Ergebnisse von Pinar einen Einfluss des fetalen Adiponektins auf die Plazentaentwicklung (Kadowaki 2006, Pinar 2008). Die hier untersuchten Plazenten weisen keine Korrelation bezüglich Gewicht, Plazentagröße und dem Fetalgewicht-zu-Plazentagewicht-Index mit der fetalen Adiponektinkonzentration auf und unterstützen die These, dass fetales Adiponektin auf das fetale aber nicht auf das plazentare Wachstum Auswirkungen hat.

Verbindung zwischen dem mütterlichen Organismus und der fetalen Adiponektinkonzentration

Weiterhin kann in dieser Arbeit gezeigt werden, dass maternale Parameter, wie Gewicht, BMI, Anzahl der Schwangerschaften, Anzahl der Geburten, Hämoglobin, Hämatokrit und CrP keine Korrelation mit der fetalen Adiponektinkonzentration eingehen. Arbeiten, die einen Einfluss des mütterlichen Nikotinkonsums auf die fetale Adiponektinkonzentration zeigen, stellen fest, dass Nikotin sehrwohl die Adiponektinkonzentration im Nabelschnurblut reduziert. Dieser Mechanismus könnte Teil der Pathologie von IUGR rauchender Mütter sein (Pardo 2005). Wie bereits beschrieben waren 4 der 23 Kinder einer intrauterinen Nikotinexposition ausgesetzt. Aus dieser geringen Anzahl lässt sich lediglich eine Beschreibung der fetalen Adiponektinkonzentrationen erlauben. Genaue statistische Untersuchungen sind nicht möglich. Die Adiponektinkonzentrationen liegen zwischen 22,29 µg/ml und 39,17 µg/ml und damit teilweise über dem Mittelwert bzw. in dem unteren Quartil. Somit führt der in dieser Arbeit konsumierte Zigarettenkonsum zu keiner starken Reduktion der fetalen Adiponektinkonzentrationen im Vergleich zu Kindern nichtrauchender Mütter. Die Serumkonzentrationen im Nabelschnurblut bei Kindern, deren Mütter Alkohol während der Schwangerschaft zu sich genommen haben, lagen zwischen 11 und 46 µg/ml. Auch hier lässt sich sagen, dass Alkohol in diesem Kollektiv keinen bemerkenswerten Einfluss auf die Adiponektinkonzentration im Nabelschnurblut nimmt.

Das Verhalten der IGFBP-2-Serumkonzentrationen

6.2.1 IGFBP-2 im mütterlichen Serum und dessen Einfluss auf das fetale Wachstum

Maternales IGFBP-2 während der Schwangerschaft

Erst in jüngster Zeit wird dem IGFBP-2 mehr und mehr Aufmerksamkeit geschenkt. Daher existieren bisher nur wenige Arbeiten, die das Verhalten von IGFBP-2 insbesondere im Verlauf der Schwangerschaft beschreiben. Die in dieser Arbeit gezeigten Werte von im Mittel 97,87 ng/ml liegen deutlich niedriger als die vom Hersteller mediagnost angegebenen Werte. Deren Serumkonzentrationen werden bei gesunden Personen im Alter von 25 Jahren in der 50. Perzentile mit 280 ng/ml und bei Personen im Alter von 35 Jahren mit 381 ng/ml beschrieben. Auch wenn der Hersteller nicht geschlechterspezifisch differenziert, entsprechen die von uns erhobenen Daten der Literatur. Auch hier zeigte sich eine signifikante Reduktion der IGFBP-2-Werte im schwangeren Organismus im Vergleich zu Nichtschwangeren (Guidice 1990). Somit liegt im mütterlichen Serum während der Schwangerschaft eine deutlich reduzierte IGFBP-2-Konzentration vor.

Eine Ursache dieser Reduktion ist die proteolytische Spaltung des IGFBP-2 durch eine kationenabhängige Protease (Davies 1991). Dabei entsteht neben dem intakten 36 kDa Molekül ein ca. 12-14 kDa großes Fragment, dessen Bindungsaffinität zur IGF-I und IGF-II reduziert ist (Firth 2002). Während der Schwangerschaft lässt sich im Vergleich zu Nichtschwangeren eine deutliche Erhöhung der Serumkonzentration dieses Fragmentes finden (Holmes 1999). In dieser Arbeit wurde ein ELISA-Kit verwendet, welches sowohl intaktes als auch fragmentiertes IGFBP-2 misst. Das bedeutet, die reduzierten Werte an Gesamt-IGFBP-2 beruhen nicht nur auf einer proteolytischen Spaltung. Es ist also zu bedenken, dass die Schwangerschaft auch zu einer reduzierten Expression und/oder Sekretion von IGFBP-2 führt. Welche Wirkungen dadurch erzielt werden, ist bisher noch nicht vollständig geklärt. Sowohl durch eine reduzierte IGFBP-2-Konzentration als auch durch die verringerte Bindungsaffinität der IGFBP-2-Fragmente zu IGF-I und IGF-II erhöht sich deren Bioverfügbarkeit und Wirkung an den mütterlichen Geweben. Dieser Effekt kann als Anpassung an die veränderte Stoffwechsellage während der Schwangerschaft gewertet werden. Weiterhing lassen sich Erklärungsmodelle aus den jüngsten Arbeiten herleiten, die die Hypothese nahelegen, dass

durch die proteolytische Spaltung die reduzierten IGFBP-2-Werte Ausdruck der veränderten Glukosetoleranz während der Schwangerschaft darstellen. IGFBP-2 ist in die metabolische Homöostase involviert. So konnte gezeigt werden, dass IGFBP-2 negativ mit dem BMI, der Insulinplasmakonzentration und Markern der Insulinresistenz wie den HOMA-Index korreliert (Mattsson 2008, Krajcik 2002, Ahmed 2007). Zudem konnte in der Arbeit von Wheatcroft et al. gezeigt werden, dass rekombinantes IGFBP-2 die Differenzierung von Prä-adipozyten zu Adipozyten hemmt. Einerseits durch die Bindung an IGF-I, andererseits auch IGF-unabhängig, denn in Abwesenheit von IGF-I trat dieser hemmende Effekt ebenfalls auf (Wheatcroft 2007). Diese Ergebnisse zeigen, dass IGFBP-2 protektiv gegenüber Adipositas und der damit verbundenen metabolischen Stoffwechsellage wirkt. Wie bereits erwähnt, ist eine reduzierte Glukosetoleranz im mütterlichen Organismus für den Feten und dessen Nährstoffbereitstellung günstig. Somit lassen sich die hier gefundenen maternal reduzierten IGFBP-2-Werte als Ausdruck der physiologisch veränderten Glukosestoffwechsellage des weiblichen Organismus während der Schwangerschaft werten.

Arbeiten, die IGFBP-2 bei Nichtschwangeren untersuchten, wiesen einen signifikanten negativen Zusammenhang zwischen der IGFBP-2-Konzentration und dem BMI auf. Außerdem zeigten Menschen mit adipöser Konstitution signifikant niedrigere IGFBP-2-Werte im Vergleich zu Normalgewichtigen (Mattsson 2008). Dieser bei Nichtschwangeren gefundene negative Zusammenhang zwischen BMI und IGFBP-2 konnte bei dem in dieser Arbeit untersuchten Kollektiv weder mit dem BMI vor der Schwangerschaft noch mit dem BMI zur Geburt festgestellt werden. Auch stellt die mütterliche Gewichtsentwicklung während der Schwangerschaft keinen entscheidenden Einfluss auf die IGFBP-2-Serumkonzentration dar. Ob weitere Einflussgrößen, die in dieser Arbeit nicht untersucht wurden, auf die IGFBP-2-Konzentration im mütterlichen Organismus wirken, müssen zukünftige Forschungen zeigen. Die von uns untersuchten IGFBP-2-Serumproben wurden von Schwangeren zwischen der 37.-42. SSW entnommen. In diesem Zeitintervall zeigte sich kein Zusammenhang zwischen der Schwangerschaftsdauer und den IGFBP-2-Werten. Interessant ist daher die Betrachtung der IGFBP-2-Konzentration im gesamten Verlauf der Schwangerschaft, so dass eine Aussage getroffen werden kann, in welchem Trimester die Reduktion stattfindet. Langford et al. berichteten bislang, dass die Serumkonzentration von IGFBP-2 während des zweiten und dritten Trimenons unverändert blieb (Langford 1998). Ergänzend zu dieser Untersuchung sollte dabei das Augenmerk auf weitere Parameter des Stoffwechsels wie Insulin, Nüchternglukose, Triglyceride, IGF-I und IGF-II sowie Hormonkonzentrationen und Entzündungsmediatoren gelegt werden, um mögliche Kausalitäten zu erkennen.

Mütterliches IGFBP-2 als Einflussfaktor auf fetales Wachstum

Reduzierte IGFBP-2-Konzentrationen im maternalen Serum sowie die damit verbundene erhöhte Bioverfügbarkeit der IGF lassen die Vermutung zu, dass die mütterliche IGF-Achse auch direkte Auswirkung auf das fetale Wachstum hat. Daher wurden die in dieser Arbeit gewonnenen IGFBP-2-Konzentrationen des maternalen Serums mit den Wachstumsparametern der Neugeborenen verglichen. Es zeigte sich, dass kein direkter Zusammenhang zwischen den maternalen IGFBP-2-Konzentrationen und den Maßen wie Geburtsgewicht, Gestationsalter, biparietaler Kopfumfang, Brustumfang, Körperlänge oder den Plazentamaßen besteht. Somit spiegelt die maternale IGFBP-2-Konzentration nicht die fetalen Wachstumsvorgänge wider. Interessant ist allerdings, dass es Hinweise auf eine erhöhte maternale IGFBP-2-Konzentration bei pathologischem Dopplerfluss im uteroplazentaren Gefäßbett gibt (Axt 1998). Ein pathologischer Dopplerfluss gilt als eine der wesentlichen Ursachen der fetalen Wachstumsretardierung. IGFBP-2 wird verstärkt durch die Deziduazellen des schwangeren Uterus exprimiert, um vermutlich durch Bindung an für die Plazentation so wichtigem IGF-II die Invasion der Trophoblastzellen zu regulieren. Eine Überproduktion von IGFBP-2 durch die Deziduazellen könnte daher insbesondere zur Hemmung der Invasion des extravillösen Trophoblast in die Spiralarterien führen. Durch den extravillösen Trophoblasten wird durch Aufhebung der Vasokonstriktion die kontinuierliche Blut- und damit Nährstoffversorgung des Feten gewährleistet. Eine mangelhafte Invasion des extravillösen Trophoblasts (EVT) in die Spiralarterien ist daher eine Ursache für die pathologische Durchblutung der Plazenta. Über diesen beschriebenen Weg könnte das maternale IGFBP-2 Einfluss auf das fetale Wachstum nehmen.

6.2.2 IGFBP-2 im Nabelschnurblut und dessen Einfluss auf das fetale Wachstum

Fetales IGFBP-2 als Einflussfaktor im Fetus

Durch Bindung an IGF-II, aber auch an IGF-I, reguliert IGFBP-2 deren Bioaktivitäten und Wirkungen. Insbesondere während der Fetalperiode, die durch Wachstumsprozesse mit vermehrter IGF-Synthese gekennzeichnet ist, kommt der regulierenden Funktion von IGFBP-2 eine wesentliche Rolle zu. Erhöhte IGF-Konzentrationen erfordern eine adäquat gesteigerte Synthese von Proteinen, mittels derer die Wirkung von IGF zielgerichtet ge-

steuert werden kann (Juul 1995). In dieser Arbeit sind die IGFBP-2-Konzentrationen im Nabelschnurblut um das 7-fache gegenüber den maternalen Serumkonzentrationen erhöht. Dies entspricht dem eben beschriebenen vermehrten Bedarf an IGFBP.

Die Bindung an IGF führt vordergründlich im fetalen Organismus zu einer Einschränkung des Wachstums und der Ausdifferenzierung der Zellen. Eine Überproduktion von IGFBP-2 im Speziellen führt folglich zu einer Retardierung des fetalen Wachstums. Neben IGFBP-1 ist tatsächlich auch IGFBP-2 im Nabelschnurblut wachstumsretardierter Feten erhöht (Lassare 1991, Street 2006). Dabei konnte gezeigt werden, dass IGFBP-2 insbesondere bei mangelhaftem Nährstoffangebot im Nabelschnurblut erhöht war (Carter 2005, Zhao 1995). Außerdem führte intermediärer Sauerstoffmangel zu einer Erhöhung der IGFBP-2-mRNA-Expression in der fetalen Leber. Auch wenn in der von Green beschriebenen Arbeit keine Erhöhung der Serumkonzentration nach vier Tagen Hypoxie eintrat, ist durch die gesteigerte Synthese in der Leber eine Zunahme der Serumkonzentration bei länger währender Hypoxie zu erwarten (Green 1999). In dem hier untersuchten Kollektiv wird das Augenmerk auf gesunde Neugeborene gelegt. Interessant ist dabei der Verlauf der IGFBP-2-Konzentrationen im Nabelschnurblut Reifgeborener. Die Korrelationsanalyse zwischen fetalem IGFBP-2 sowie Wachstums- und Reifeparametern wie Geburtsgewicht, Körperlänge, Kopfumfang, biparietalen Durchmesser, Brustumfang und Reifealter konnten keinen Zusammenhang aufweisen. Dieses Ergebnis zeigt, dass bei regelrechter intrauteriner Entwicklung zum Zeitpunkt der Geburt die regulierende Rolle des IGFBP-2 keinen direkten Einfluss auf das individuelle Wachstum nimmt.

Weiterhin konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass die Synthese des IGFBP-2 geschlechtsunspezifisch ist. Ebenfalls zeigte sich keine Abhängigkeit zwischen der IGFBP-2-Konzentration und dem Geburtsmodus.

Fetales IGFBP-2 als Einflussfaktor auf die Plazentaentwicklung

IGF-II ist für das Wachstum der Plazenta ein wesentlicher Faktor (Baker 1993). Konkrete Effekte des IGF-II auf die Plazenta sind zum einen die Invasion des Trophoblasten. Dabei induziert IGF-II die Invasion der hochinvasiven Trophoblastzellen vermutlich über die Bindung an den IGF2R (McKinnon 2001). Desweiteren ist IGF-II verantwortlich für die Differenzierung von Zellen der ectoplazentaren Zellzone (EPC), die sich dadurch zu den hochinvasiven Trophoblast-Riesenzellen (TGC, eng. trophoblast giant cells) entwickeln (Kanai-Azuma 1993). Als dritter Wachstumseffekt des IGF-II ist die Zellproliferation, vermittelt durch

den Insulinrezeptor, von entscheidender Bedeutung, da dadurch eine Vergrößerung der Oberfläche des Synzytiotrophoblasten erzielt werden kann (Morrione 1997, Roberts 2001). Dabei agiert IGF-II sowohl parakrin, indem es von der Plazenta selbst exprimiert wird, als auch endokrin, denn es wird auch in fetalen Geweben gebildet und hat seine Wirkung nicht nur im Fetus sondern auch an der Plazenta (Carter 2005, Ong 2000). Neben dem IGF2R dessen Hauptfunktion der Abbau von IGF-II ist, reguliert auch IGFBP-2 die Wirkungen des IGF-II. Daher wird in dieser Arbeit die Auswirkung des fetalen IGFBP-2 auf die Plazenta untersucht. Es zeigt sich, dass zwischen Plazentamaß und Plazentagewicht kein direkter Zusammenhang mit dem IGFBP-2 besteht. Interessant ist allerdings, dass der Fetalgewicht-zu-Plazentagewicht-Index positiv mit der fetalen IGFBP-2-Konzentration korreliert. Durch das Plazentagewicht kommen zum einen die Größe der Plazenta als auch die Ausprägung der Plazentazotten zum Ausdruck, die für die Oberflächenvergrößerung relevant ist. Der Fetalgewicht-zu-Plazentagewicht-Index drückt daher das Versorgungsverhältnis zwischen Plazenta und Feten aus. Dabei bedeutet ein niedriger Wert im Index, dass die Plazenta im Verhältnis zum Kind durch ihre Größe potentiell eine gute Versorgung gewährleisten kann. Natürlich werden mit dem Plazentagewicht nicht die strukturellen Eigenschaften, wie Rezeptorvorkommen, Rezeptordichte, Dicke des Synzytiotrophoblasten oder Pathologien, wie Infazierungen und Kalzifikationen, berücksichtigt. Bezüglich der pathologischen Strukturen kann darauf verwiesen werden, dass in dieser Untersuchung nur gesunde Plazenten eingeschlossen wurden, die keine Auffälligkeiten besaßen. Die beschriebene Korrelation zeigt, dass bei potentiell ausreichender Versorgung eine niedrige IGFBP-2-Konzentration im Nabelschnurblut gefunden wird, während ein niedrigeres Plazentagewicht eine schlechtere Versorgung bedingen kann und mit höheren IGFBP-2-Werten assoziiert ist.

Untersuchungen von Constância et al. zeigen einen ähnlichen Zusammenhang allerdings in Hinblick auf IGF-II (Constância 2002, Constância 2005, Sibley 2004). Hier wurde mittels Deletion das *igf2*-Gen in Mäusen ausgeschaltet. Als Resultat waren die Plazenten der Mäuse signifikant kleiner. Dabei führt der Mangel an IGF-II zuerst zu einer Reduktion des Plazentawachstums, erst später konnte auch eine Reduktion im fetalen Wachstum festgestellt werden. Die vorzeitige Reduktion der Plazentagröße spiegelt sich auch in dem Fetalgewicht-zu-Plazentagewicht-Index wider, der bei diesen Mäusen deutlich höher lag und damit die Gefahr für eine eingeschränkte Nährstoffversorgung durch die Plazenta anzeigt. Die Ursache für die erst später folgende fetale Wachstumsretardierung begründen die Autoren mit einer funktionalen Adaptation der Plazenta an den Nährstoffbedarf des Feten. Die Autoren konnten zeigen, dass es bei Deletion des *igf2*-Gens initial zu einem gesteigerten Transport von Glukose und

Aminosäuren kommt. Dabei fanden sie eine hochregulierte Expression der Transportergene Slc2a3 und Slc38a4, die zu der Familie der System-A-Aminosäurentransporter gehören (Constância 2005). Ist dieser Kompensationsmechanismus erschöpft, folgt unweigerlich die fetale Wachstumsretardierung durch Nährstoffmangel. Diese Tatsache impliziert, dass es Signale zwischen Fetus und Plazenta gibt, über die der Fetus seinen Bedarf an Nährstoffen anzeigt und diesen auch bis zu einer Grenze über die Plazenta regeln kann. Außerdem bedeuten diese Ergebnisse, dass die Reduktion des Plazentawachstums eher eintritt als die fetale Wachstumsretardierung.

In dieser Arbeit wurde nicht das IGF-II untersucht, dennoch lassen sich aus den Erkenntnissen von Constância interessante Kausalitäten auf den hier dargestellten Zusammenhang zwischen IGFBP-2 und dem Fetalgewicht-zu-Plazentagewicht-Index herleiten. Während der physiologischen Entwicklung führt, wie oben bereits erwähnt, IGFBP-2 zur Reduktion der IGF-II-Wirkung. Dabei ist das Wachstum der Plazenta als Zielorgan zuerst von einer reduzierten IGF-II-Wirkung betroffen. Der Fetalgewicht-zu-Plazentagewicht-Index beschreibt auch im gesunden Kollektiv die Versorgungssituation zwischen Plazenta und Feten. In dem von uns untersuchten Kollektiv handelt es sich größtenteils um gesunde Reifgeborene, ohne Risikofaktoren für eine IUGR, also mit einer prinzipiell ausreichenden Versorgungssituation. Trotzdem stehen höhere Werte des Fetalgewicht-zu-Plazentagewicht-Indexes mit hohen IGFBP-2-Werten in Zusammenhang. Daher lässt sich formulieren, dass IGFBP-2 als Hemmer der IGF-II-Wirkung ein sensibler Marker für das Plazentawachstum im Verhältnis zum Fetus ist und damit auch als Marker für die Versorgungssituation agiert. Weiterhin zeigt es, dass das fetale Wachstum und das Plazentawachstum über das IGFBP-2 in Verbindung stehen.

Um den gefundenen Zusammenhang zwischen Fetalgewicht-zu-Plazentagewicht-Index und fetalem IGFBP-2 in den Kontext der intrauterinen Wachstumsprozesse einzuordnen, ist es notwendig zu überlegen, wodurch die erhöhten IGFBP-2-Konzentrationen im Nabelschnurblut bedingt sind und woher sie stammen.

IGFBP-2 wird sowohl in der Plazenta exprimiert als auch in fetalen Geweben. Eine Überproduktion von IGFBP-2 in der Plazenta würde durch Inaktivierung des IGF-II eine kleinere bzw. leichtere Plazenta zur Folge haben. Durch die Überproduktion könnte auch im Verhältnis mehr IGFBP-2 ins fetale Serum gelangen und ggf. im fetalen Organismus die dortigen IGF-II-Effekte hemmen. Dabei würden die fetalen IGFBP-2-Konzentrationen Prozesse in der Plazenta widerspiegeln.

Eine weitere Überlegung ist, dass eine erhöhte IGFBP-2-Expression in fetalen Geweben zur

Hemmung der IGF-II-Wirkungen in der Plazenta führt und damit eine kleinere Plazenta bedingt. Ursachen für eine Erhöhung der IGFBP-2-Expression im Feten könnten zum einen ein reduzierter Stoffwechsel im Feten selbst sein, der mittels IGFBP-2 das Nährstoffangebot durch die Plazenta reguliert.

Weiterhin könnte das Nährstoffangebot reduziert sein, was zu einer Steigerung des IGFBP-2 führt und darüber die wachstumsfördernden Effekte des IGF-II im fetalen Organismus, aber auch in der Plazenta, hemmt.

Außerdem wäre es möglich, dass das IGFBP-2 aus dem mütterlichen Organismus stammt und durch die Plazenta an den Feten gelangt. Dabei würde dann das maternale IGFBP-2 die fetale IGF-II Wirkung hemmen, da IGF-II nicht plazentagängig ist.

Verbindung zwischen dem mütterlichen Organismus und der fetalen IGFBP-2-Konzentration

Die im vorangegangenen Abschnitt erläuterten Ergebnisse über den Zusammenhang zwischen IGFBP-2 und dem Fetalgewicht-zu-Plazentagewicht-Index weisen darauf hin, dass das Nährstoffangebot ein wichtiger Faktor für die Produktion von IGFBP-2 im fetalen Organismus darstellt. Neben der Plazenta, als wichtiger Faktor für die Nährstoffbereitstellung, ist natürlich der maternale Organismus die Quelle für das Nährstoffangebot. Es zeigte sich, dass die fetale IGFBP-2-Konzentration im Nabelschnurblut negativ mit dem BMI der Mutter sowohl vor der Schwangerschaft als auch zur Geburt korreliert. Das heißt, Kinder von Müttern mit hohem BMI zeigen signifikant niedrigere IGFBP-2-Konzentrationen im Nabelschnurblut als Kinder, deren Mütter einen niedrigeren BMI aufweisen. Damit wird ein direkter Zusammenhang zwischen der mütterlichen Konstitution und dem fetalen IGFBP-2 aufgezeigt. Dass fetales IGFBP-2 abhängig vom Nährstoffangebot ist, konnten bereits zwei Arbeitsgruppen zeigen. Carter et al. fanden eine erhöhte IGFBP-2-Konzentration im fetalen Plasma als auch eine gesteigerte IGFBP-2-mRNA in der fetalen Leber, wenn durch unilaterale Ligation der A. uterina das Nährstoffangebot deutlich reduziert war (Carter 2005). Weiterhin bewiesen Zhao et al., dass Nahrungsrestriktion der Muttertiere zu erhöhten IGFBP-2-Konzentrationen im Nabelschnurblut führen (Zhao 1995). Der BMI gilt als wichtiger Marker für den mütterlichen Stoffwechsel und kann gemeinsam mit weiteren Markern auf eine diabetogene Stoffwechsellage hindeuten. Dabei wären die Nährstoffe wie Glukose erhöht, was sich im physiologischen Rahmen günstig auf das fetale Wachstum auswirkt. Daher ist es möglich, den gefundenen Zusammenhang zwischen mütterlichem

BMI und fetaler IGFBP-2-Konzentration als Hinweis auf die Nährstoffversorgung des Feten zu werten. Dass die Nährstoffversorgung der Mutter über das IGF-System Auswirkungen insbesondere auf fetale Fettgewebsentwicklung hat, wurde kürzlich von Bispham et al. beschrieben (Bispham 2003). Dabei zeigten im Tierexperiment, dass die Nachkommen von Schafen, die zu Beginn der Gravidität einer Nahrungsrestriktion ausgesetzt waren, ein stärker ausgeprägtes Fettgewebe. In diesen Fettzellen lag zudem eine erhöhte Menge mRNA für IGF-I und IGF-II-Rezeptoren vor. Durch eine höhere Dichte von IGF-I- und IGF-II-Rezeptoren werden die Zellen sensibler für IGF-I und IGF-II und deren anabole Wirkungen, z.B. der gesteigerten Glukoseaufnahme und der erhöhten Insulinsensitivität (Symonds 2003).

Diese Ergebnisse lassen sich durch den hier untersuchten Zusammenhang zwischen IGFBP-2 und dem maternalen BMI ergänzen. Denn eine erhöhte Dichte von Rezeptoren ist meist die Reaktion einer verminderten Substratkonzentration im Serum. Das bei niedrigem BMI erhöhte IGFBP-2 bindet an IGF-II und verringert so dessen Bioverfügbarkeit. Da kein Zusammenhang zwischen dem mütterlichen BMI und den Plazentamaßen sowie dem Fetalgewicht-zu-Plazentagewicht-Index in dem hier untersuchten Kollektiv besteht, erscheint das fetale IGFBP-2 als Bindeglied in der materno-plazento-fetalen Einheit. Denn IGFBP-2 spiegelt zum einen das durch die mütterliche Konstitution ermöglichte Nährstoffangebot des Feten wider, andererseits gilt der erhöhte IGFBP-2-Wert durch Hemmung der IGF-II Wirkung als Faktor für mögliche Wachstumsretardierungen, die sich zuerst über ein vermindertes plazentares Wachstum äußern. Eine mögliche Antwort auf die gestellte Frage nach der Ursache von erhöhten IGFBP-2-Werten ist nach unseren Untersuchungen das Nährstoffangebot, das durch die Stoffwechsellage der Mutter zur Verfügung steht.

Die Genexpression von Adiponektin und IGFBP-2 in Plazenten und mononukleären Zellen

6.3.1 Die Genexpression von Adiponektin und deren Bedeutung für das intrauterine Wachstum

Ursprung des fetalen Adiponektins

Als Ursprungsort für Adiponektin konnte neben dem weißen Fettgewebe insbesondere das braune Fettgewebe identifiziert werden (Viengchareun 2002, Fujimoto 2005, Corbetta, 2005). Erstaunlich ist die Tatsache, dass Neugeborene, deren absolute Fettmasse im Vergleich zu Erwachsenen deutlich niedriger ist, trotzdem eine bis zu dreifach höhere Serumkonzentration aufweisen. Weiterhin wirft das paradoxe Ergebnis, dass ein erhöhtes Geburtsgewicht mit höheren Adiponektinspiegeln assoziiert ist, während im Erwachsenenalter gerade der umgekehrte Fall sich präsentiert, nämlich das Übergewicht zu reduzierten Adiponektinkonzentrationen führt, Fragen auf. Als Erklärung wird hier die Besonderheit des fetalen Fettgewebes genannt. Nicht nur, dass braunes Fettgewebe einen im Vergleich zum weißen Fettgewebe veränderten Stoffwechsel besitzt, auch die Verteilung des Fettgewebes und die unterschiedliche Art der Fettgewebszunahme können ein Erklärungsmodell für die oben genannten Phänomene liefern. Im Gegensatz zu Erwachsenen ist das subkutane Fettgewebe beim Feten stärker als das viszerale Fettgewebe ausgeprägt (Harrington 2002). Wie Arbeiten zeigen konnten, steht insbesondere die Masse des viszeralen Fettgewebes in negativem Zusammenhang mit der Adiponektinkonzentration, während ein Zusammenhang des subkutanen Fettgewebes mit der Adiponektinkonzentration nicht gezeigt werden konnte. Dabei ist die Adiponektinsekretion aus beiden Gewebearten als gleichwertig anzusehen. Die Speicherung von Fettsäuren erfolgt in erster Linie in Zellen des viszeralen Fetts, was zu einer Zunahme dieses Gewebetyps führt. Wie bekannt ist, sinkt die Adiponektinproduktion und Sekretion mit zunehmender Füllung der Fettvakuole (Motoshima 2002). Dies erklärt, warum im Erwachsenen eine Steigerung des viszeralen Fetts zu einer Reduktion der Adiponektinkonzentration führt. Die Steigerung der Fettmasse im Neugeborenen verhält sich anders. Hier werden nicht Fettsäuren in bereits vorhandenen Fettzellen gespeichert, sondern es kommt zu einer vermehrten Replikation der Fettzellen. Die Erhöhung der Zellzahl, die

in der Lage sind Adiponektin zu produzieren, stellt daher das Hauptresort der deutlich erhöhten Adiponektinkonzentrationen dar (Kotani 2004, Boulton 1978).

Doch neben dem Fettgewebe konnte auch in anderen Geweben mesothelialen Ursprungs Adiponektin-mRNA nachgewiesen werden. So beschreibt Corbetta et al. die Expression von Adiponektin zusätzlich zum weißen und braunen Fettgewebe auch in Skelettmuskulatur, in glatter Muskulatur, Capsula renalis und Perineurium. Desweiteren wurde mRNA in Geweben des Ektoderms gefunden wie auch in der Epidermis und der Linse (Corbetta, 2005).

Plazenta als Quelle des fetalen Adiponektins

Die Rolle der Plazenta als Quelle für fetales Adiponektin ist indes noch nicht hinreichend geklärt. Die in der Literatur beschriebenen Ergebnisse sind widersprüchlich bezüglich einer Expression von Adiponektin in Plazentazellen (Caminos 2005, Haugen 2006, Meller 2006, Herse 2009, Struwe 2009, McDonald 2009, Chen 2006). In der vorliegenden Arbeit wurde nicht das Protein Adiponektin bestimmt, sondern es wurde die Transkriptionsebene mit Blickpunkt auf die mRNA des Adiponektins betrachtet. Da bisherige Untersuchungen keine eindeutige Aussage über diese Funktion zulassen, wurde in dieser Arbeit die vollständige Plazenta untersucht. Dabei wurden Teile der Amnion- und Chorionplatte erhalten und gemeinsam mittels Realtime-PCR untersucht. Dabei stellte sich heraus, dass 8 der 22 Plazenten tatsächlich eine mRNA-Expression des Adiponektins zeigten. Allerdings lagen die erhaltenen Werte mit 2×10^{-5} in einem kaum nachweisbaren Bereich. Es ist zu überlegen, ob dieser Nachweis von Adiponektin-mRNA eventuell durch angeschnittene Gefäße der Chorionplatte hervorgebracht wurde, da bekannt ist, dass Endothelzellen der Blutgefäße insbesondere im fetalen Organismus Adiponektin exprimieren (Corbetta, 2005).

Letztendlich zeigen die hier vorgestellten Ergebnisse, dass die Plazenta nicht die Quelle des fetalen Adiponektins ist. Werden die Ergebnisse der Serumkonzentrationen von Adiponektin im fetalen und maternalen Organismus betrachtet, erfolgt der Schluss, dass die Plazenta eine Barriere für den Austausch zwischen mütterlichem und fetalem Adiponektin darstellt. Denn wie bereits beschrieben, bleiben die maternalen Adiponektinkonzentrationen im Vergleich zu Nichtschwangeren unverändert.

Der fetale Organismus, der eine um das Sechsfache erhöhte Adiponektinkonzentration aufweist, führt eben nicht zu einer vermehrten Adiponektinkonzentration im mütterlichen Serum. Auch scheint Adiponektin, weder fetales noch maternales, Einfluss auf das Plazen-

tawachstum zu nehmen. Allerdings zeigen Arbeiten, dass die Plazenta, wenn auch nicht Sekretionsort des Adiponektins, trotzdem Zielort für Adiponektin ist. Zwar konnten Arbeiten, wie auch unsere, keine Adiponektin-mRNA in Plazentagewebe nachweisen, es gelang aber die mRNA der Adiponektinrezeptoren AdipoR1 und AdipoR2 zu entdecken (Meller 2006, McDonald 2009). In der Arbeit von McDonald wurden in vitro Trophoblastzellen mit 2 µg/ml globulär rekombiniertem Adiponektin inkubiert. Anschließend wurde die Genexpression verschiedener plazentär produzierter Hormone mittels Realtime-PCR gemessen. Dabei zeigte sich, dass u.a. die Genexpression von humanen Plazentalaktogen reduziert ist. Plazentalaktogen führt im mütterlichen Organismus zu einer relativen Insulinresistenz, die die adäquate Nährstoffversorgung des Feten gewährleistet. Die Autoren formulieren die These, dass die metabolische Homöostase, die einerseits für ein ausreichendes Nährstoffangebot für den Feten notwendig ist und die andererseits für eine regelrechte Stoffwechsellaage in der Schwangerschaft verantwortlich ist, durch einen diffizilen Regulationsmechanismus gewährleistet wird. Mütterliches Adiponektin könnte nach den oben beschriebenen Ergebnissen ein Teil dieser Regulation sein, indem es durch Reduktion der Plazentalaktogenproduktion den mütterlichen Organismus vor einer diabetischen Stoffwechselsituation schützt. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass der Ursprung des fetalen Adiponektins im Feten selbst liegt. Der Plazenta kommt keine produzierende Funktion zu. Allerdings zeugt der Nachweis von Adiponektinrezeptoren in der Plazenta davon, dass Adiponektin dort wirkt, vermutlich in der Regulation der endokrinen Funktion.

Mononukleäre Zellen als mögliche Quelle des Adiponektins

In dieser Arbeit wurde nicht nur die Plazenta als mögliche Quelle des Adiponektins untersucht, sondern es stellte sich die Frage, welche weiteren Gewebearten für die Produktion des fetalen Adiponektins verantwortlich sind. Corbetta et al. hatten bereits beschrieben, dass neben Fettzellen auch andere Zellen mesothelialen Ursprungs in der Lage sind Adiponektin zu exprimieren (Corbetta, 2005). Bisher gibt es keine Arbeiten, die eine Untersuchung der Adiponektin-mRNA in fetalen oder adulten mononukleären Zellen beschreiben. In dieser Arbeit wurden sowohl die mononukleären Zellen aus dem mütterlichen Serum als auch aus dem Nabelschnurblut mittels Realtime-PCR auf die Adiponektin-mRNA Expression hin untersucht. Es zeigt sich, dass weder in adulten noch in fetalen mononukleären Zellen eine Adiponektinexpression stattfindet.

6.3.2 Die Genexpression von IGFBP-2 und deren Bedeutung für das intrauterine Wachstum

Ursprung des fetalen IGFBP-2

Prinzipiell wird IGFBP-2 in allen Geweben des fetalen Organismus gebildet, wobei auch hier die Leber den größten Teil der mRNA-Expression wahrnimmt. Dabei folgt das IGFBP-2 als wachstumsregulierendes Protein den Expressionsmustern der IGF, insbesondere des IGF-II (Wood 1992, Carr 1995, Lindenberg-Kortleve 1997).

Funktion des IGFBP-2 in der Plazenta

In der vorliegenden Arbeit kann gezeigt werden, dass die Plazenta selbst Expressionsort von IGFBP-2 ist. Damit reiht sich dieses Ergebnis in die bisherigen Erkenntnisse ein (Han 1996, Hill 1993, Zhou 1992, Iwashita 1994). Für die mRNA-Bestimmung wurde die vollständige Plazenta verwendet, eine Differenzierung der IGFBP-2-mRNA-Menge der einzelnen placentaren Kompartimente erfolgte nicht. Aus anderen Arbeiten sind besonders die Ergebnisse von Han et al. hervorzuheben. Diese Arbeitsgruppe betrachtete die einzelnen Kompartimente der Plazenta bezüglich der mRNA-Expression von IGF-I und IGF-II sowie den IGFBP-1 -6. Dabei zeigte sich, dass IGFBP-2 verstärkt in dem maternalen Kompartiment der Plazenta, insbesondere den Deziduaellen, exprimiert wird. Interessanterweise gegenüberliegend von jenen Zellen des Trophoblasten, die IGF-II verstärkt produzieren (Han 1996). Daher liegt der Schluss nahe, dass IGFBP-2 auf parakrinem Weg die Invasion der Trophoblastzellen ins Myometrium reguliert (Carter 2006). Bisher ist nicht vollständig geklärt, ob IGFBP-2 auch in humanen Synzytiotrophoblastenzellen exprimiert wird. Han et al. konnten keine Expression von IGFBP-2 im Synzytiotrophoblasten nachweisen, allerdings zeigte sich eine deutliche Expression im Trophoblasten von Schweinen und Ratten (Hu 2008, Carter 2005). Zu dieser Diskussion können die in dieser Arbeit vorgelegten Ergebnisse keinen Beitrag leisten. Fest steht jedoch, dass IGFBP-2 als Protein im Synzytiotrophoblasten zu finden ist (Hill 1993, Iwashita 1994). Da IGFBP-2 zu den gefäßgängigen Bindungsproteinen gehört, ist es möglich, dass IGFBP-2 aus dem maternalen oder fetalen Serum in den Synzytiotrophoblasten gelangt und dort ebenfalls die Wirkungen des IGF-II reguliert. Über diesen Weg wäre es möglich, dass die fetal produzierten IGFBP-2-Moleküle im Sinne von Signalproteinen zwischen Fetus und Plazenta wirken. Gleiches gilt für maternales IGFBP-2 als Signalmolekül zwischen

mütterlichem Organismus und Plazenta.

Die in dieser Arbeit beschriebene IGFBP-2-mRNA-Expression korreliert weder mit der fetalen noch mit der maternalen IGFBP-2-Serumkonzentration, was darauf hinweist, dass die Plazenta nicht die Quelle des IGFBP-2 im fetalen und maternalen Serum ist. Somit ist die Plazenta ebenfalls nicht für die im fetalen Organismus erhöhten IGFBP-2-Werte verantwortlich. Im Abschnitt 6.2.2 wurde der Zusammenhang zwischen fetalen IGFBP-2-Serumkonzentrationen und dem Fetalgewicht-zu-Plazentagewicht Index beschrieben. Dabei wurde überlegt, dass die Überproduktion von IGFBP-2-mRNA zum einen zu einer kleineren Plazenta führt und zum anderen ins fetale Blut übergehen könnte. Die Folge wäre eine erhöhte Serumkonzentration von IGFBP-2 im Nabelschnurblut. Anhand der hier dargestellten Ergebnisse muss von dieser Überlegung Abstand genommen werden, da keine Korrelation zwischen der von der Plazenta exprimierten IGFBP-2-mRNA und den im Nabelschnurblut gefundenen Serumkonzentrationen besteht. Weiterhin korreliert die mRNA Expression weder mit dem Plazentagewicht noch mit Körpermaßen des Neugeborenen. Somit führt die parakrine Funktion des plazentaren IGFBP-2 im gesunden Neugeborenen zu keiner direkten Beeinflussung des plazentaren und fetalen Wachstums.

IGFBP-2 gehört zu den gefäßgängigen Bindungsproteinen. Daher wäre ein Austausch zwischen maternalem und fetalem IGFBP-2 durch die Plazenta denkbar. Zwischen beiden Serumkonzentrationen besteht ein ausgeprägter Gradient, so dass ein passiver Transportweg von maternalem IGFBP-2 ins fetale Serum in Frage käme. Tatsächlich besteht keine Korrelation zwischen den IGFBP-2-Werten im maternalen und fetalen Blut, so dass die Plazenta auch hier eine Schranke zwischen mütterlichem und kindlichem Organismus darstellt. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass IGFBP-2 im Nabelschnurblut im Hauptteil von fetalen Geweben produziert wird und die Regulation der IGF-II-Wirkung daher hauptsächlich vom Feten selbst erfolgt.

Auffallend ist, dass im Vergleich zur Expression in mononukleären Zellen die IGFBP-2-Expression um ein Vielfaches höher liegt. Dieses Ergebnis ist durch die verstärkte IGF-II-Wirkung in der Plazenta zu erklären, die einer stärkeren Regulation durch IGFBP-2 bedarf.

IGFBP-2-Expression in mononukleären Zellen

Der Vergleich der IGFBP-2-Expression zwischen mütterlichen und fetalen MNC zeigt, dass in fetalen Zellen eine bis zu fünffach höhere mRNA-Menge vorliegt. Die während der Fetalperiode deutlich erhöhten IGF-II-Werte bewirken nicht nur wie bereits beschrieben die Proliferation der Plazentazellen, sondern IGF-II führt ebenfalls zur Proliferation der Granulozyten (Schwartz 1996). Die begleitend ansteigenden Expressionswerte des IGFBP-2 können als Ausdruck der Wachstumsregulation im Bereich der Hämatopoese gedeutet werden. Weiterhin ist auch eine eigenständige IGFBP-2-Wirkung auf die Aktivierung und Proliferation von T-Zellen beschrieben (Hettmer 2005). Dabei führte die Inkubation von MNC aus dem peripheren Blut mit IGFBP-2 zu einer gesteigerten Proliferation. Außerdem zeigten aktivierte T-Zellen eine deutlich erhöhte IGFBP-2-Sekretion. Da die IGFBP-2-mRNA fetaler MNC nicht mit den fetalen IGFBP-2-Serumkonzentrationen im Nabelschnurblut in Verbindung steht, ist die Expression von IGFBP-2 in MNC in erster Linie für die autokrine Regulation in diesen Zellen bestimmt. Die Korrelationsanalysen mit Parametern des fetalen bzw. plazentaren Wachstums konnten keinen signifikanten Zusammenhang zeigen. Zudem besteht keine Korrelation mit mütterlichen Parametern. Diese Ergebnisse erhärten die These, dass die Hauptaufgabe des IGFBP-2 in den MNC in der regulierten Entwicklung des Immunsystems im Sinne der Hämatopoese liegt.

Die IGFBP-2-mRNA-Expression in maternalen MNC zeigte einen signifikanten Zusammenhang mit dem mütterlichen Gewicht zur Geburt. Während Frauen mit höherem Körpergewicht niedrigere IGFBP-2-Konzentrationen aufweisen, liegen die höchsten IGFBP-2-Werte bei Frauen mit niedrigerem Körpergewicht. Ein solcher Zusammenhang ist bisher weder bei nichtschwangeren noch bei schwangeren Frauen in der Literatur beschrieben worden. Die neuesten Arbeiten zum IGFBP-2 zeigen, dass IGFBP-2 eine tragende Rolle im Stoffwechselkomplex zukommt. Hier gibt es einen engen Zusammenhang zwischen dem Gewicht und der IGFBP-2-Serumkonzentration. In dieser Arbeit konnte zwar diese Korrelation zwischen Gewichtsmaßen und IGFBP-2-Serumwerten nicht bestätigt werden, jedoch scheint sich auch im schwangeren Organismus das Gewicht auf die IGFBP-2-Expression auszuwirken. Bedenkt man, dass die Menge an IGFBP-2, die durch MNC produziert wird, nur einen sehr geringen Anteil an der Serumkonzentration trägt, könnte das hier beschriebene Ergebnis dafür sprechen, dass eine Gewichtszunahme eine Reduktion an IGFBP-2 auf Expressionsebene zur Folge hat.

Interaktion zwischen Adiponektin und IGFBP-2 im Bezug auf die fetoplazentare Entwicklung

Die Besonderheiten von Adiponektin und IGFBP-2 im maternalen wie auch im fetalen Organismus wurden bisher getrennt beschrieben und untersucht. Doch Gemeinsamkeiten in ihren Wirkungen sowie neueste Untersuchungen zwischen Adiponektin und anderen IGF-Bindungsproteinen zeigen, dass Adiponektin und das IGF-System Schnittstellen aufweisen. So zeigen Arbeiten über IGFBP-1, dass sowohl Adiponektin als auch IGFBP-1 mit dem BMI bei Schwangeren korrelieren (Jansson 2008). Weiterhin zeigte sich bei postmenopausalen Frauen eine strenge positive Korrelation zwischen IGFBP-1 und Adiponektin (Tworoger 2007). Diese Korrelation ließ sich auch bei Kindern nachweisen, dabei war es unerheblich, ob sie als SGA- oder AGA-Kinder geboren worden waren (Kamoda 2007). IGFBP-2 wirkt wie auch IGFBP-3 im Zellkern und kann dort die Transkription von Genen beeinflussen (Höflich 2004, Terrien 2005, Frommer 2006). Bei IGFBP-3 ist die Hemmung der Expression von Adiponektin bekannt. Sie erfolgt durch Bindung an den PPAR- γ -retinoidX-Rezeptor- α (RXR- α), was zu einer Blockierung der Promotorregion des Adiponektingens führt (Zappalà 2009). Auch bei IGFBP-5 konnte gezeigt werden, dass die mRNA-Menge im subkutanen Fettgewebe eng mit der Adiponektin-Serumkonzentrationen bei Frauen verknüpft ist (Kallio 2009). Arbeiten, die Adiponektin und IGFBP-2 vergleichen, existieren derzeit nicht. Im fetalen Organismus stellt IGFBP-2 das zweithäufigste IGF-Bindungsprotein dar. Adiponektin wird aktuell als wichtiger Wachstumsförderer im fetalen Organismus beschrieben, so dass in dieser Arbeit die Frage gestellt wird, inwieweit eine Verbindung zwischen Adiponektin und dem IGF-System über IGFBP-2 besteht und ob die IGF-unabhängigen Wirkungen des IGFBP-2 Auswirkungen auf das Adiponektin haben.

6.4.1 Interaktionen zwischen Adiponektin und IGFBP-2 im maternalen Organismus

Sowohl Adiponektin als auch IGFBP-2 korrelieren negativ im nichtschwangeren Organismus mit dem BMI. Zudem wirken beide Hormone insulinsensitivierend und korrelieren negativ mit Markern der Insulinresistenz (Arita 1999, Whitehead 2006, Mattsson 2008, Ahmed 2007). Außerdem nehmen sie beide hemmenden Einfluss auf die Glukoneogenese und die

Fettsäuresynthese. Dabei wirkt Adiponektin direkt über seine Rezeptoren und IGFBP-2 indirekt über Bindung an IGF-I. Ein entscheidender Schnittpunkt in der Interaktion zwischen Adiponektin und IGFBP-2 liegt in der Differenzierungsphase der Adipozyten. Wie Wheatcroft et al. belegten, führt IGFBP-2 zu einer Hemmung der Differenzierung von Präadipozyten zu Adipozyten, sowohl über Bindung an IGF-I als auch direkt (Wheatcroft 2007). Während dieser Differenzierung der Adipozyten entsteht Adiponektin (Maeda 2001, Iwaki 2003). Wird die Differenzierung durch erhöhte IGFBP-2-Konzentrationen gehemmt, so wäre die Adiponektin-Expression eingeschränkt. Es wäre daher zu erwarten, dass erhöhte IGFBP-2-Konzentration niedrigere Adiponektinspiegel bedingen. Bisher wurde ein solches Verhalten weder in vitro betrachtet noch wurde im nichtschwangeren Organismus eine solche Korrelation analysiert. In der vorliegenden Arbeit wird erstmals Serum-Adiponektin mit Serum-IGFBP-2 verglichen. Auffallend ist, dass Adiponektin im mütterlichen Serum etwa die 100-fach höhere Konzentration aufwies als IGFBP-2. Dabei zeigte sich, dass keine Korrelation zwischen Adiponektin und IGFBP-2 besteht und damit die oben aufgeführten Überlegungen nicht für den graviden Organismus gelten. In dieser Arbeit wurde bereits beschrieben, dass sich Unterschiede des IGFBP-2 im Serum Schwangerer und Nichtschwangerer nachweisen lassen. Zum einen ließ sich feststellen, dass, verglichen mit den mitgelieferten Referenzwerten, die Serumkonzentration bei Schwangeren deutlich niedriger lag. Zum anderen konnte der bei Nichtschwangeren gefundene Zusammenhang zwischen BMI und IGFBP-2 in diesem Kollektiv nicht bestätigt werden. Somit führt die Schwangerschaft neben Veränderungen im IGFBP-2-Stoffwechsel wahrscheinlich auch zur Veränderung des Wirkspektrums, eventuell da besonders auf den Fettstoffwechsel. Weiterhin konnte in dieser Arbeit festgestellt werden, dass Adiponektin trotz zahlreicher Veränderungen im Stoffwechsel Schwangerer in Konzentration und Wirkung nahezu konstant blieb, wenn die Ergebnisse mit Daten Nichtschwangerer verglichen werden. Ob die Veränderungen im IGFBP-2 zur Homöostase des Adiponektin-Metabolismus beitragen, kann mit den hier erhobenen Daten nicht formuliert werden.

Zudem wird auch der Einfluss des maternalen Adiponektin auf die IGFBP-2-mRNA-Expression in maternalen MNCs und in der Plazenta untersucht. Auch hier zeigte sich kein Zusammenhang. Somit lässt sich aus diesen Ergebnissen schlussfolgern, dass zwischen Adiponektin und IGFBP-2 im schwangeren Organismus keine direkte Interaktion stattfindet. Einschränkend muss natürlich gesagt werden, dass diese Schlussfolgerung sich nur auf die hier untersuchten Materialien bezieht und dass insbesondere im Hinblick auf die Stoffwechsellage der Mutter diese Aussage mit Parametern wie HOMA-Index, Glukose,

Insulin, IGF-I und IGF-II sowie denen des Fettstoffwechsels erweitert werden sollte.

6.4.2 Interaktionen von Adiponektin und IGFBP-2 im Fetus sowie zwischen maternalem und fetalem Organismus

Im fetalen Organismus nehmen Adiponektin und IGFBP-2 konträre Stellungen insbesondere hinsichtlich des Wachstums ein. Wie auch in dieser Arbeit beschrieben, steht Adiponektin in positiver Korrelation zum Geburtsgewicht und Reifealter (Pardo 2004, Kotani 2004, Kamoda 2004). IGFBP-2 dagegen ist erhöht bei Kindern mit IUGR (Lassare 1991, Street 2006). Ob IGFBP-2 im fetalen Organismus nur über das IGF-System hemmend auf das fetale Wachstum wirkt oder es auch Interaktionen mit dem fetalen Adiponektin eingeht, wird an dieser Stelle mittels Korrelationsanalyse ermittelt. Als gemeinsamer Ansatzpunkt für eine Beeinflussung des IGFBP-2 auf das adiponektinvermittelte Wachstum ist das Interleukin-6 zu sehen. Street et al. zeigten, dass IGFBP-2 in strenger positiver Korrelation mit dem proinflammatorischen Zytokin Interleukin-6 (IL-6) im Nabelschnurblut steht (Street 2006), wobei Interleukin-6 seinerseits als Inhibitor der Adiponektin-Expression fungiert (Fasshauer 2003). Somit wäre indirekt über das IL-6 eine Beeinflussung des IGFBP-2 auf das Adiponektin im fetalen Organismus zu erwarten. In dem hier aufgeführten Kollektiv von gesunden Reifgeborenen konnte kein Zusammenhang zwischen der fetalen Adiponektin- und der fetalen IGFBP-2-Konzentration beschrieben werden. Weiterhin ließ sich feststellen, dass IGFBP-2 in der regelrechten intrauterinen Entwicklung zum Ende der Schwangerschaft keinen Einfluss auf das fetale Wachstum nimmt. Wie sich Adiponektin und IGFBP-2 bei IUGR oder anderen Pathologien während der Schwangerschaft verhalten, müssen weitere Studien zeigen.

Die fetale Adiponektin-Serumkonzentration hat indes keinen Einfluss auf die IGFBP-2-mRNA-Expression, sowohl in der Plazenta, als auch in fetalen MNC.

Interessanterweise zeigte sich bei der Analyse der Hormone zwischen maternalem und fetalem Organismus, dass scheinbar ein erhöhter Adiponektinspiegel im mütterlichen Serum zu erniedrigten IGFBP-2-Werten im Nabelschnurblut führt. Allerdings ist zu beachten, dass auch zwischen den fetalen IGFBP-2-Konzentrationen und dem mütterlichen BMI eine negative Korrelation besteht und dass maternales Adiponektin positiv mit dem mütterlichen BMI korreliert. Deshalb ist es notwendig mittels multivarianter Analyse zu schauen, ob sowohl das maternale Adiponektin als auch der maternale BMI unabhängig auf die fetale IGFBP-2-Konzentration wirken. Wie sich zeigte, besteht keine Unabhängigkeit dieser

Parameter auf das fetale IGFBP-2. Beide Parameter gelten als austauschbar und sind als Stellvertreter des mütterlichen Stoffwechsels zu sehen. Das mütterliche Adiponektin hat keinen direkten Einfluss auf das fetale IGFBP-2 sondern gilt als Marker des mütterlichen Metabolismus, ebenso wie der BMI. Daher lässt der gefundene Zusammenhang zwischen mütterlichem Adiponektin und fetalem IGFBP-2 folgende Schlussfolgerung zu: das fetale IGFBP-2 wird vom mütterlichen Stoffwechsel beeinflusst, nämlich in der Weise, dass bei erhöhtem BMI und niedrigerem Adiponektinspiegel eine größere Nährstoffbereitstellung insbesondere Glukose vorliegt und durch das für den Feten verbesserte Nährstoffangebot mittels Reduktion der IGFBP-2-Werte ein vermehrtes fetales Wachstum erfolgen könnte. Tatsächlich muss an dieser Stelle kritisch angemerkt werden, dass die Glukosekonzentrationen oder weitere Nährstoffwerte in dieser Arbeit nicht bestimmt worden sind.

Zwischen maternalen IGFBP-2 und fetalen Adiponektin Konzentrationen besteht kein Zusammenhang.

Werden diese Ergebnisse abschließend gemeinsam betrachtet, so lässt sich sagen, dass Adiponektin im fetalen Organismus ohne Einwirkung von IGFBP-2 seine wachstumsfördernde Wirkung wahrnimmt. Weiterhin existiert über das IGFBP-2 keine Verbindung zwischen dem Adiponektin und dem IGF-System.

6.4.3 Interaktionen zwischen Adiponektin und IGFBP-2 auf Genexpressionsebene

In dieser Arbeit konnte geklärt werden, dass weder das Plazentagewebe noch maternale oder fetale MNC in der Lage sind Adiponektin-mRNA zu exprimieren. Somit kommt es zu keiner Interaktion zwischen Adiponektin und IGFBP-2 in Plazenta und MNC. Interessant wären Untersuchungen insbesondere an braunem Fettgewebe, Leberzellen und Muskelzellen, da diese Zellen sowohl Adiponektin als auch IGFBP-2 exprimieren und für deren Serumkonzentrationen im fetalen Organismus verantwortlich sind.

Schlussfolgerung

Die vorliegende Arbeit hatte zum Ziel, die Wirkungen von Adiponektin und IGFBP-2 auf das fetale Wachstum zum Zeitpunkt der Geburt bei regelrechter Schwangerschaft zu analysieren. Es konnte gezeigt werden, dass die fetale Adiponektinkonzentration positiv mit Gestationsalter und Geburtsgewicht des Kindes korreliert und somit eine fördernde Wirkung auf das fetale Wachstum ausübt. Hingegen hat das Adiponektin des maternalen Organismus keinen direkten Einfluss auf das fetale Wachstum zum Ende der Schwangerschaft. Die in dieser Arbeit erhobenen maternalen Parameter, im Speziellen der BMI, zeigen zwar einen engen negativen Zusammenhang mit den maternalen Adiponektin-Serumkonzentrationen, die fetalen Serumkonzentrationen bleiben aber unbeeinflusst von diesen Parametern. Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass neben Insulin und dem IGF-System auch Adiponektin als Wachstumsförderer im fetalen Organismus fungiert. Inwieweit die insulinsensitivierende Wirkung des Adiponektins dafür verantwortlich ist oder ob Adiponektin insulinunabhängig agiert, müssen weitere Studien zeigen.

Die Ergebnisse der Realtime-PCR konnten klar formulieren, dass weder die Plazenta noch mononukleäre Zellen Adiponektin-mRNA exprimieren. Die Plazenta und mononukleäre Zellen sind somit nicht die Quelle der im fetalen Organismus deutlich erhöhten Serumkonzentrationen. Insbesondere die Plazenta wurde bisher als möglicher Ursprungsort der fetalen Adiponektin-Serumkonzentration diskutiert. In dieser Arbeit konnte nicht nur nachgewiesen werden, dass dem nicht so ist, denn weiterhin ergeben die hier vorgestellten Ergebnisse, dass die Plazenta auch als Schranke für Adiponektin fungiert. Das fetale Serum-Adiponektin wird daher hauptsächlich vom Fetus selbst produziert und wirkt nur im Feten.

Es ist bekannt, dass IGFBP-2 bei der Pathologie der fetalen Wachstumsretardierung eine tragende Rolle einnimmt. Die in dieser Arbeit vorgestellten Ergebnisse zeigen, dass bei regelrechter fetaler Entwicklung IGFBP-2 keinen Einfluss auf die Wachstumsparameter wie Größe, Gewicht, Kopf-, Brust- und Bauchumfang des Feten hat. Erstmals war es möglich zu beschreiben, dass IGFBP-2 positiv mit dem Fetalgewicht-zu-Plazentagewicht-Index korreliert und somit ein Marker für die Versorgungssituation des Feten durch die Plazenta darstellt. Diese Erkenntnis bietet einen wichtigen Ausgangspunkt für weitere Studien im Bereich der Kausalität zwischen IUGR und IGFBP-2.

Weiterhin konnte mit dieser Arbeit erstmalig gezeigt werden, dass IGFBP-2 im Serum des Feten negativ mit dem Metabolismus der Mutter assoziiert ist. Werden die Ergebnisse des Einflusses zwischen IGFBP-2 und Fetalgewicht-zu-Plazentagewicht-Index in die Betrachtung

mit einbezogen, so stellt sich heraus, dass IGFBP-2 ein Bindeglied zwischen mütterlichen Stoffwechsel und damit zwischen der maternalen Nährstoffbereitstellung, plazentarer Nährstoffversorgung und fetalem Wachstum ist.

Die Ergebnisse der IGFBP-2-mRNA-Expression in Plazenten und MNC haben weder Einfluss auf die fetalen oder maternalen Serumkonzentrationen noch auf die fetalen Wachstumsparameter. Das in der Plazenta exprimierte IGFBP-2 ist somit hauptsächlich für die Regulation des IGF-II in der Plazenta bestimmt. Gleiches ist für die Expression in den MNC zu beschreiben. Erstmalig konnte mit dieser Arbeit gezeigt werden, dass das mütterliche Körpergewicht zu einer Reduktion der IGFBP-2-mRNA-Expression in MNC führt. Das heißt, erhöhtes Körpergewicht führt zu einer Reduktion an IGFBP-2 auf Expressionsebene. Mit diesem Ergebnis lässt sich eine Erklärung für die erniedrigten IGFBP-2-Serumkonzentrationen bei hohem BMI, die bisher bei Männern und nichtschwangeren Frauen entdeckt worden sind, finden.

Als erste Arbeit wurde hier das Zusammenspiel zwischen Adiponektin und IGFBP-2 betrachtet. Dabei wurde speziell auf Kompartimente der materno-plazento-fetalen Einheit eingegangen. Die Ergebnisse zeigen, dass über das IGFBP-2 keine Verbindung zwischen Adiponektin und dem IGF-System besteht. Weiterhin scheinen keine IGF-unabhängigen Wirkungen des IGFBP-2 zu existieren, die die hier untersuchten Effekte des Adiponektins beeinflussen. Als hervorzuhebendes Ergebnis ist, dass fetales Adiponektin nur im Feten selbst produziert wird und direkte Auswirkung nur auf den fetalen Organismus hat, während im Gegensatz dazu IGFBP-2 als Signalbote zwischen den Kompartimenten der materno-plazento-fetalen Einheit agiert.

Literaturverzeichnis

- Adamo ML, Shao ZM, Lanau F, Chen JC, Clemmons DR, Roberts CT Jr, LeRoith D, Fontana JA. 1992. Insulin-like growth factor-I (IGF-I) and retinoic acid modulation of IGF-binding proteins (IGFBPs): IGFBP-2, -3, and -4 gene expression and protein secretion in a breast cancer cell line. *Endocrinology*, 131(4):1858-1866.
- Ahmed RL, Thomas W, Schmitz KH. 2007. Interactions between insulin, body fat, and insulin-like growth factor axis proteins. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 16(3):593-597.
- Arai T, Busby W Jr, Clemmons DR. 1996. Binding of insulin-like growth factor (IGF) I or II to IGF-binding protein-2 enables it to bind to heparin and extracellular matrix. *Endocrinology*, 137(11):4571-4575.
- Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, Hotta K, Shimomura I, Nakamura T, Miyaoka K, Kuriyama H, Nishida M, Yamashita S, Okubo K, Matsubara K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Funahashi T, Matsuzawa Y. 1999. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochemical and biophysical research communications*, 257(1):79-83.
- Axt R, Jensen A, Schmidt W, Berger R. 1998. Die intrauterine Wachstumsretardierung (IUGR) - Zur Rolle der Insulin-like Growth Factors in der Regulation fetalen Wachstums. *Geburtsheilkunde und Frauenheilkunde*, 58:529-542.
- Bacha F, Saad R, Gungor N, Arslanian SA. 2004. Adiponectin in youth: relationship to visceral adiposity, insulin sensitivity, and beta-cell function. *Diabetes care*, 27(2):547-552.
- Baker J, Liu JP, Robertson EJ, Efstratiadis A. 1993. Role of insulin-like growth factors in embryonic and postnatal growth. *Cell*, 75(1):73-82.
- Berner HS, Lyngstadaas SP, Spahr A, Monjo M, Thommesen L, Drevon CA, Syversen U, Reseland JE. 2004. Adiponectin and its receptors are expressed in bone-forming cells. *Bone*, 35(4):842-849.
- Binkert C, Landwehr J, Mary JL, Schwander J, Heinrich G. 1989. Cloning, sequence analysis and expression of a cDNA encoding a novel insulin-like growth factor binding protein (IGFBP-2). *The EMBO journal*, 8(9):2497-2502.
- Bispham J, Gopalakrishnan GS, Dandrea J, Wilson V, Budge H, Keisler DH, Broughton Pipkin F, Stephenson T, Symonds ME. 2003. Maternal endocrine adaptation throughout pregnancy to nutritional manipulation: consequences for maternal plasma leptin and cortisol and the programming of fetal adipose tissue development. *Endocrinology*, 144(8):3575-3585.
- Blum WF, Horn N, Kratzsch J, Jørgensen JO, Juul A, Teale D, Mohnike K, Ranke MB. 1993. Clinical studies of IGFBP-2 by radioimmunoassay. *Growth regulation*, 3(1):100-104.

- Bogan JS, Lodish HF. 1999. Two compartments for insulin-stimulated exocytosis in 3T3-L1 adipocytes defined by endogenous ACRP30 and GLUT4. *The Journal of cell biology*, 146(3):609-620.
- Boisclair YR, Yang YW, Stewart JM, Rechler MM. 1994. Insulin-like growth factor-I and insulin stimulate the synthesis of IGF-binding protein-2 in a human embryonic kidney cell line. *Growth regulation*, 4(3):136-146.
- Boulton TJ, Dunlop M, Court JM. 1978. The growth and development of fat cells in infancy. *Pediatric research*, 12(9):908-911.
- Busby WH, Snyder DK, Clemmons DR. 1988. Radioimmunoassay of a 26,000-dalton plasma insulin-like growth factor-binding protein: control by nutritional variables. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 67(6):1225-1230.
- Caminos JE, Nogueiras R, Gallego R, Bravo S, Tovar S, García-Caballero T, Casanueva FF, Diéguez C. 2005. Expression and regulation of adiponectin and receptor in human and rat placenta. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 90(7):4276-4286.
- Capeau J. 2007. The story of adiponectin and its receptors AdipoR1 and R2: to follow. *Journal of hepatology*, 47(5):736-738.
- Caren R, Morton ME. 1954. Pyrimidine metabolism in diabetes mellitus studied with N15 labeled uracil. *The American Journal of the Medical Sciences*, 227(2):141-148.
- Carr JM, Owens JA, Grant PA, Walton PE, Owens PC, Wallace JC. 1995. Circulating insulin-like growth factors (IGFs), IGF-binding proteins (IGFBPs) and tissue mRNA levels of IGFBP-2 and IGFBP-4 in the ovine fetus. *The Journal of endocrinology*, 145(3):545-557.
- Carter AM, Kingston MJ, Han KK, Mazzuca DM, Nygard K, Han VK. 2005. Altered expression of IGFs and IGF-binding proteins during intrauterine growth restriction in guinea pigs. *The Journal of endocrinology*, 184(1):179-189.
- Carter AM, Nygard K, Mazzuca DM, Han VK. 2006. The expression of insulin-like growth factor and insulin-like growth factor binding protein mRNAs in mouse placenta. *Placenta*, 27(2-3):278-290.
- Catalano PM, Hoegh M, Minium J, Huston-Presley L, Bernard S, Kalhan S, Hauguel-De Mouzon S. 2006. Adiponectin in human pregnancy: implications for regulation of glucose and lipid metabolism. *Diabetologia*, 49(7):1677-1685.
- Chan TF, Yuan SS, Chen HS, Guu CF, Wu LC, Yeh YT, Chung YF, Jong SB, Su JH. 2004. Correlations between umbilical and maternal serum adiponectin levels and neonatal birthweights. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica*, 83(2):165-169.
- Chard T. 1994. Insulin-like growth factors and their binding proteins in normal and abnormal human fetal growth. *Growth regulation*, 4(3):91-100.

- Chen J, Tan B, Karteris E, Zervou S, Digby J, Hillhouse EW, Vatish M, Randeva HS. 2006. Secretion of adiponectin by human placenta: differential modulation of adiponectin and its receptors by cytokines. *Diabetologia*, 49(6):1292-1302.
- Chinetti G, Zawadzki C, Fruchart JC, Staels B. 2004. Expression of adiponectin receptors in human macrophages and regulation by agonists of the nuclear receptors PPARalpha, PPARgamma, and LXR. *Biochemical and biophysical research communications*, 314(1):151-158.
- Chirco R, Liu XW, Jung KK, Kim HR. 2006. Novel functions of TIMPs in cell signaling. *Cancer metastasis reviews*, 25(1):99-113.
- Cianfarani S, Martinez C, Maiorana A, Scirè G, Spadoni GL, Boemi S. 2004. Adiponectin levels are reduced in children born small for gestational age and are inversely related to postnatal catch-up growth. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 89(3):1346-1351.
- Clarke KJ, Zhong Q, Schwartz DD, Coleman ES, Kemppainen RJ, Judd RL. 2003. Regulation of adiponectin secretion by endothelin-1. *Biochemical and biophysical research communications*, 312(4):945-949.
- Conover CA, Khosla S. 2003. Role of extracellular matrix in insulin-like growth factor (IGF) binding protein-2 regulation of IGF-II action in normal human osteoblasts. *Growth hormone & IGF research: official journal of the Growth Hormone Research Society and the International IGF Research Society*, 13(6):328-335.
- Constância M, Hemberger M, Hughes J, Dean W, Ferguson-Smith A, Fundele R, Stewart F, Kelsey G, Fowden A, Sibley C, Reik W. 2002. Placental-specific IGF-II is a major modulator of placental and fetal growth. *Nature*, 417(6892):945-948.
- Constância M, Angiolini E, Sandovici I, Smith P, Smith R, Kelsey G, Dean W, Ferguson-Smith A, Sibley CP, Reik W, Fowden A. 2005. Adaptation of nutrient supply to fetal demand in the mouse involves interaction between the *Igf2* gene and placental transporter systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(52):19219-19224.
- Corbetta S, Bulfamante G, Cortelazzi D, Barresi V, Cetin I, Mantovani G, Bondioni S, Beck-Peccoz P, Spada A. 2005. Adiponectin expression in human fetal tissues during mid- and late gestation. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 90(4):2397-9402.
- Cortelazzi D, Corbetta S, Ronzoni S, Pelle F, Marconi A, Cozzi V, Cetin I, Cortelazzi R, Beck-Peccoz P, Spada A. 2007. Maternal and foetal resistin and adiponectin concentrations in normal and complicated pregnancies. *Clinical endocrinology*, 66(3):447-453.
- Craici I, Wagner S, Garovic VD. 2008. Preeclampsia and future cardiovascular risk: formal risk factor or failed stress test?. *Therapeutic advances in cardiovascular disease*, 2(4):249-559.
- Cseh K, Baranyi E, Melczer Z, Kaszás E, Palik E, Winkler G. 2004. Plasma adiponectin and pregnancy-induced insulin resistance. *Diabetes care*, 27(1):274-275.
- Daughaday WH, Hall K, Raben MS, Salmon WD Jr, van den Brande JL, van Wyk JJ. 1972. Somatomedin: proposed designation for sulphation factor. *Nature*, 235(5333):107.

- Davies SC, Holly JM, Coulson VJ, Cotterill AM, Abdulla AF, Whittaker PG, Chard T, Wass JA. 1991. The presence of cation-dependent proteases for insulin-like growth factor binding proteins does not alter the size distribution of insulin-like growth factors in pregnancy. *Clinical endocrinology*, 34(6):501-506.
- Delaigle AM, Jonas JC, Bauche IB, Cornu O, Brichard SM. 2004. Induction of adiponectin in skeletal muscle by inflammatory cytokines: in vivo and in vitro studies. *Endocrinology*, 145(12):5589-5597.
- Enzi G, Zanardo V, Caretta F, Inelmen EM, Rubaltelli F. 1981. Intrauterine growth and adipose tissue development. *The American journal of clinical nutrition*, 34(9):1785-1790.
- Fasshauer M, Klein J, Neumann S, Eszlinger M, Paschke R. 2002. Hormonal regulation of adiponectin gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *Biochemical and biophysical research communications*, 290(3):1084-1089.
- Fasshauer M, Kralisch S, Klier M, Lossner U, Bluher M, Klein J, Paschke R. 2003. Adiponectin gene expression and secretion is inhibited by interleukin-6 in 3T3-L1 adipocytes. *Biochemical and biophysical research communications*, 301(4):1045-1050.
- Fasshauer M, Klein J, Kralisch S, Klier M, Lössner U, Blüher M, Paschke R. 2004. Growth hormone is a positive regulator of adiponectin receptor 2 in 3T3-L1 adipocytes. *FEBS letters*, 558(1-3):27-32.
- Fasshauer M, Blüher M, Stumvoll M, Tönnessen P, Faber R, Stepan H. 2007. Differential regulation of visfatin and adiponectin in pregnancies with normal and abnormal placental function. *Clinical endocrinology*, 66(3):434-439.
- Firth SM, Baxter RC. 2002. Cellular actions of the insulin-like growth factor binding proteins. *Endocrine reviews*, 23(6):824-54.
- Frommer KW, Reichenmiller K, Schutt BS, Hoefflich A, Ranke MB, Dodt G, Elmlinger MW. 2006. IGF-independent effects of IGFBP-2 on the human breast cancer cell line Hs578T. *Journal of molecular endocrinology*, 37(1):13-23.
- Fujimoto N, Matsuo N, Sumiyoshi H, Yamaguchi K, Saikawa T, Yoshimatsu H, Yoshioka H. 2005. Adiponectin is expressed in the brown adipose tissue and surrounding immature tissues in mouse embryos. *Biochimica et biophysica acta*, 1731(1):1-12.
- Gardosi JO, Mongelli TM, Mull T. 1995. Intrauterine growth retardation. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 9:445-463.
- Giudice LC, Farrell EM, Pham H, Lamson G, Rosenfeld RG. 1990. Insulin-like growth factor binding proteins in maternal serum throughout gestation and in the puerperium: effects of a pregnancy-associated serum protease activity. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 71(4):806-816.

- Gleeson LM, Chakraborty C, McKinnon T, Lala PK. 2001. Insulin-like growth factor-binding protein 1 stimulates human trophoblast migration by signaling through alpha 5 beta 1 integrin via mitogen-activated protein Kinase pathway. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 86(6):2484-93.
- Gluckman PD, Harding JE. 1997. The physiology and pathophysiology of intrauterine growth retardation. *Hormon Research*, 48 (suppl.1):11-16.
- Green LR, Kawagoe Y, Hill DJ, Richardson BS, Han VK. 2000. The effect of intermittent umbilical cord occlusion on insulin-like growth factors and their binding proteins in preterm and near-term ovine fetuses. *The Journal of endocrinology*, 166(3):565-577.
- Hajer GR, van Haeften TW, Visseren FL. 2008. Adipose tissue dysfunction in obesity, diabetes, and vascular diseases. *European heart journal*, 29(24):2959-2971.
- Hall K. 1970. Quantative determination of the sulphation factor activity in human serum. *Acta endocrinologica*, 63(2):338-530.
- Halleux CM, Takahashi M, Delporte ML, Detry R, Funahashi T, Matsuzawa Y, Brichard SM. 2001. Secretion of adiponectin and regulation of apM1 gene expression in human visceral adipose tissue. *Biochemical and biophysical research communications*, 288(5):1102-1107.
- Han VK, Bassett N, Walton J, Challis JR. 1996. The expression of insulin-like growth factor (IGF) and IGF-binding protein (IGFBP) genes in the human placenta and membranes: evidence for IGF-IGFBP interactions at the feto-maternal interface. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 81(7):2680-2693.
- Harrington TA, Thomas EL, Modi N, Frost G, Coutts GA, Bell JD. 2002. Fast and reproducible method for the direct quantitation of adipose tissue in newborn infants. *Lipids*, 37(1):95-100.
- Haugen F, Ranheim T, Harsem NK, Lips E, Staff AC, Drevon CA. 2006. Increased plasma levels of adipokines in preeclampsia: relationship to placenta and adipose tissue gene expression. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, 290(2):E326-333.
- Herse F, Bai Youpeng, Staff AC, Yong-Meid J, Dechend R, Zhou Rong. 2009. Circulating and uteroplacental adipocytokine concentrations in preeclampsia. *Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif.)*, 16(6):584-590.
- Hettmer S, Dannecker L, Foell J, Elmlinger MW, Dannecker GE. 2005. Effects of insulin-like growth factors and insulin-like growth factor binding protein-2 on the in vitro proliferation of peripheral blood mononuclear cells. *Human immunology*, 66(2):95-103.
- Hill DJ, Clemmons DR, Riley SC, Bassett N, Challis JR. 1993. Immunohistochemical localization of insulin-like growth factors (IGFs) and IGF binding proteins -1, -2 and -3 in human placenta and fetal membranes. *Placenta*, 14(1):1-12.
- Höflich A, Lahm H, Blum W, Kolb H, Wolf E. 1998. Insulin-like growth factor-binding protein-2 inhibits proliferation of human embryonic kidney fibroblasts and of IGF-responsive colon carcinoma cell lines. *FEBS letters*, 434(3):329-334.

- Höflich A, Reisinger R, Schuett BS, Elmlinger MW, Russo VC, Vargas GA, Jehle PM, Lahm H, Renner-Müller I, Wolf E. 2004. Peri/nuclear localization of intact insulin-like growth factor binding protein-2 and a distinct carboxyl-terminal IGFBP-2 fragment in vivo. *Biochemical and biophysical research communications*, 324(2):705-710.
- Holmes RP, Holly JM, Soothill PW. 1999. Maternal serum insulin-like growth factor binding protein-2 and -3 and fetal growth. *Human reproduction (Oxford, England)*, 14(7):1879-84.
- Hu E, Liang P, Spiegelman BM. 1996. AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *The Journal of biological chemistry*, 271(18):10697-10703.
- Hu Y, Tan R, MacCalman CD, Eastabrook G, Park SH, Dutz JP, von Dadelszen P. 2008. IFN-gamma-mediated extravillous trophoblast outgrowth inhibition in first trimester explant culture: a role for insulin-like growth factors. *Molecular human reproduction*, 14(5):281-289.
- Hug C, Wang J, Ahmad NS, Bogan JS, Tsao TS, Lodish HF. 2004. T-cadherin is a receptor for hexameric and high-molecular-weight forms of Acrp30/adiponectin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(28):10308-10313.
- Ibáñez L, Sebastiani G, Lopez-Bermejo A, Díaz M, Gómez-Roig MD, de Zegher F. 2008. Gender specificity of body adiposity and circulating adiponectin, visfatin, insulin, and insulin growth factor-I at term birth: relation to prenatal growth. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 93(7):2774-2778.
- Ichida K, Moriyama T, Morita H, Kondo T, Yoshida S, Ohara N, Maruo T. 2007. Plasma adiponectin concentrations and placental adiponectin expression in pre-eclamptic women. *Gynecological endocrinology: the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*, 23(4):238-243.
- Inami I, Okada T, Fujita H, Makimoto M, Hosono S, Minato M, Takahashi S, Harada K, Yamamoto T. 2007. Impact of serum adiponectin concentration on birth size and early postnatal growth. *Pediatric research*, 61(5 Pt 1):604-606.
- Iñiguez G, Soto N, Avila A, Salazar T, Ong K, Dunger D, Mericq V. 2004. Adiponectin levels in the first two years of life in a prospective cohort: relations with weight gain, leptin levels and insulin sensitivity. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 89(11):5500-5503.
- Iwaki M, Matsuda M, Maeda N, Funahashi T, Matsuzawa Y, Makishima M, Shimomura I. 2003. Induction of adiponectin, a fat-derived antidiabetic and antiatherogenic factor, by nuclear receptors. *Diabetes*, 52(7):1655-1663.
- Iwashita M. 1994. Physiological significance of IGF-I and its binding proteins on fetal growth and maturation. *Nippon Sanka Fujinka Gakkai zasshi*, 46(8):660-672.
- Jansson N, Nilsfelt A, Gellerstedt M, Wennergren M, Rossander-Hulthén L, Powell TL, Jansson T. 2008. Maternal hormones linking maternal body mass index and dietary intake to birth weight. *The American journal of clinical nutrition*, 87(6):1743-1749.

- Jaquet D, Deghmoun S, Chevenne D, Czernichow P, Lévy-Marchal C. 2006. Low serum adiponectin levels in subjects born small for gestational age: impact on insulin sensitivity. *International journal of obesity*, 30(1):83-87.
- Jones JJ, Clemmons DR. 1995. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological Actions. *Endocrine Reviews*, 16(1):3-34.
- Juul A, Dalgaard P, Blum WF, Bang P, Hall K, Michaelsen KF, Müller J, Skakkebaek NE. 1995. Serum levels of insulin-like growth factor (IGF)-binding protein-3 (IGFBP-3) in healthy infants, children, and adolescents: the relation to IGF-I, IGF-II, IGFBP-1, IGFBP-2, age, sex, body mass index, and pubertal maturation. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 80(8):2534-2542.
- Kadowaki K, Waguri M, Nakanishi I, Miyashita Y, Nakayama M, Suehara N, Funahashi T, Shimomura I, Fujita T. 2006. Adiponectin concentration in umbilical cord serum is positively associated with the weight ratio of fetus to placenta. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 91(12):5090-5094.
- Kajantie E, Hytinen T, Hovi P, Andersson S. 2004. Cord plasma adiponectin: a 20-fold rise between 24 weeks gestation and term. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 89(8):4031-4036.
- Kallio P, Tolppanen AM, Kolehmainen M, Poutanen K, Lindström J, Tuomilehto J, Kuulasmaa T, Kuusisto J, Pulkkinen L, Uusitupa M. 2009. Association of sequence variations in the gene encoding insulin-like growth factor binding protein 5 with adiponectin. *International journal of obesity*, 33(1):80-88.
- Kamoda T, Saitoh H, Saito M, Sugiura M, Matsui A. 2004. Serum adiponectin concentrations in newborn infants in early postnatal life. *Pediatric research*, 56(5):690-693.
- Kamoda T, Nozue H, Matsui A. 2007. Serum levels of adiponectin and IGFBP-1 in short children born small for gestational age. *Clinical endocrinology*, 66(2):290-294.
- Kamon J, Yamauchi T, Muto S, Takekawa S, Ito Y, Hada Y, Ogawa W, Itai A, Kasuga M, Tobe K, Kadowaki T. 2004. A novel IKK β inhibitor stimulates adiponectin levels and ameliorates obesity-linked insulin resistance. *Biochemical and biophysical research communications*, 323(1):242-248.
- Kanai-Azuma M, Kanai Y, Kurohmaru M, Sakai S, Hayashi Y. 1993. Insulin-like growth factor (IGF)-I stimulates proliferation and migration of mouse ectoplacental cone cells, while IGF-II transforms them into trophoblastic giant cells in vitro. *Biology of reproduction*, 48(2):252-261.
- Kaser S, Moschen A, Cayon A, Kaser A, Crespo J, Pons-Romero F, Ebenbichler CF, Patsch JR, Tilg H. 2005. Adiponectin and its receptors in non-alcoholic steatohepatitis. *Gut*, 54(1):117-121.
- Kharroubi I, Rasschaert J, Eizirik DL, Cnop M. 2003. Expression of adiponectin receptors in pancreatic beta cells. *Biochemical and biophysical research communications*, 312(4):1118-1122.

- Kogut MD, Kaplan SA, Shimizu CS. 1963. Growth retardation: use of sulfation factor as a bioassay for growth hormone. *Pediatrics*, 31:538-551.
- Kotani Y, Yokota I, Kitamura S, Matsuda J, Naito E, Kuroda Y. 2004. Plasma adiponectin levels in newborns are higher than those in adults and positively correlated with birth weight. *Clinical endocrinology*, 61(4):418-423.
- Krajcik RA, Borofsky ND, Massardo S, Orentreich N. 2002. Insulin-like growth factor I (IGF-I), IGF-binding proteins, and breast cancer. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 11(12):1566-1573.
- Kuang Z, Yao S, Keizer DW, Wang C, Bach LA, Forbes BE, Wallace JC, Norton RS. 2006. Structure, Dynamics and Heparin Binding of the C-terminal Domain of Insulin-like Growth Factor-binding Protein-2 (IGFBP-2). *Journal of molecular biology*, 364(4):690-704.
- Kyriakakou M, Malamitsi-Puchner A, Militsi H, Boutsikou T, Margeli A, Hassiakos D, Kanaka-Gantenbein C, Papassotiriou I, Mastorakos G. 2008. Leptin and adiponectin concentrations in intrauterine growth restricted and appropriate for gestational age fetuses, neonates, and their mothers. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*, 158(3):343-348.
- Lamson G, Giudice LC, Rosenfeld RG. 1991. Insulin-like growth factor binding proteins: structural and molecular relationships. *Growth factors*, 5(1):19-28.
- Langford K, Nicolaides K, Miell JP. 1998. Maternal and fetal insulin-like growth factors and their binding proteins in the second and third trimesters of human pregnancy. *Human reproduction (Oxford, England)*, 13(5):1389-1393.
- Lassarre C, Hardouin S, Daffos F, Forestier F, Frankenhe F, Binoux M. 1991. Serum insulin-like growth factors and insulin-like growth factor binding proteins in the human fetus. Relationships with growth in normal subjects and in subjects with intrauterine growth retardation. *Pediatric research*, 29(3):219-225.
- Lindenbergh-Kortleve DJ, Rosato RR, van Neck JW, Nauta J, van Kleffens M, Groffen C, Zwarthoff EC, Drop SL. 1997. Gene expression of the insulin-like growth factor system during mouse kidney development. *Molecular and cellular endocrinology*, 132(1-2):81-91.
- Lindsay RS, Walker JD, Havel PJ, Hamilton BA, Calder AA, Johnstone FD; Scottish Multicentre Study of Diabetes Pregnancy. 2003. Adiponectin is present in cord blood but is unrelated to birth weight. *Diabetes care*, 26(8):2244-2249.
- Liu JP, Baker J, Perkins AS, Robertson EJ, Efstratiadis A. 1993. Mice carrying null mutations of the genes encoding insulin-like growth factor I (Igf-1) and type 1 IGF receptor (Igf1r). *Cell*, 75(1):59-72.
- Louvi A, Accili D, Efstratiadis A. 1997. Growth-promoting interaction of IGF-II with the insulin receptor during mouse embryonic development. *Developmental biology*, 189(1):33-48.

- Maeda K, Okubo K, Shimomura I, Funahashi T, Matsuzawa Y, Matsubara K. 1996. cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (AdiPose Most abundant Gene transcript 1). *Biochemical and biophysical research communications*, 221(2):286-289.
- Maeda N, Takahashi M, Funahashi T, Kihara S, Nishizawa H, Kishida K, Nagaretani H, Matsuda M, Komuro R, Ouchi N, Kuriyama H, Hotta K, Nakamura T, Shimomura I, Matsuzawa Y. 2001. PPARgamma ligands increase expression and plasma concentrations of adiponectin, an adipose-derived protein. *Diabetes*, 50(9):2094-2099.
- Martos-Moreno GA, Barrios V, Sáenz de Pipaón M, Pozo J, Dorronsoro I, Martínez-Biarge M, Quero J, Argente J. 2009. Influence of prematurity and growth restriction on the adipokine profile, IGF1, and ghrelin levels in cord blood: relationship with glucose metabolism. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*, 161(3):381-389.
- Mattsson A, Svensson D, Schuett B, Osterziel KJ, Ranke MB. 2008. Multidimensional reference regions for IGF-I, IGFBP-2 and IGFBP-3 concentrations in serum of healthy adults. *Growth hormone & IGF research: official journal of the Growth Hormone Research Society and the International IGF Research Society*, 18(6):506-516.
- Mazaki-Tovi S, Romero R, Vaisbuch E, Erez O, Mittal P, Chaiworapongsa T, Kim SK, Pacora P, Yeo L, Gotsch F, Dong Z, Yoon BH, Hassan SS, Kusanovic JP. 2009. Maternal serum adiponectin multimers in gestational diabetes. *Journal of perinatal medicine*, 37(6):637-650.
- McCance DR, Pettitt DJ, Hanson RL, Jacobsson LT, Knowler WC, Bennett PH. 1994. Birth weight and non-insulin dependent diabetes: thrifty genotype, thrifty phenotype, or surviving small baby genotype?. *BMJ (Clinical research ed.)*, 308(6934):942-945.
- McDonald EA, Wolfe MW. 2009. Adiponectin attenuation of endocrine function within human term trophoblast cells. *Endocrinology*, 150(9):4358-4365.
- McKinnon T, Chakraborty C, Gleeson LM, Chidiac P, Lala PK. 2001. Stimulation of human extravillous trophoblast migration by IGF-II is mediated by IGF type 2 receptor involving inhibitory G protein(s) and phosphorylation of MAPK. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 86(8):3665-3674.
- Meller M, Qiu C, Vadachkoria S, Abetew DF, Luthy DA, Williams MA. 2006. Changes in placental adipocytokine gene expression associated with gestational diabetes mellitus. *Physiological research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca*, 55(5):501-512.
- Mohan S, Nakao Y, Honda Y, Landale E, Leser U, Dony C, Lang K, Baylink DJ. 1995. Studies on the mechanisms by which insulin-like growth factor (IGF) binding protein-4 (IGFBP-4) and IGFBP-5 modulate IGF actions in bone cells. *The Journal of biological chemistry*, 270(35):20424-20431.
- Mohan S, Baylink DJ. 2002. IGF-binding proteins are multifunctional and act via IGF-dependent and -independent mechanisms. *The Journal of endocrinology*, 175(1):19-31.

- Morrione A, Valentinis B, Xu SQ, Yumet G, Louvi A, Efstratiadis A, Baserga R. 1997. Insulin-like growth factor II stimulates cell proliferation through the insulin receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(8):3777-3782.
- Motoshima H, Wu X, Sinha MK, Hardy VE, Rosato EL, Barbot DJ, Rosato FE, Goldstein BJ. 2002. Differential regulation of adiponectin secretion from cultured human omental and subcutaneous adipocytes: effects of insulin and rosiglitazone. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 87(12):5662-5667.
- Mullis KB, Faloona FA. 1987. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods in enzymology*, 155:335-350.
- Nakano Y, Tobe T, Choi-Miura NH, Mazda T, Tomita M. 1996. Isolation and characterization of GBP28, a novel gelatin-binding protein purified from human plasma. *Journal of biochemistry*, 120(4):803-812.
- Nien JK, Mazaki-Tovi S, Romero R, Erez O, Kusanovic JP, Gotsch F, Pineles BL, Gomez R, Edwin S, Mazor M, Espinoza J, Yoon BH, Hassan SS. 2007. Plasma adiponectin concentrations in non-pregnant, normal and overweight pregnant women. *Journal of perinatal medicine*, 35(6):522-531.
- Ong GK, Hamilton JK, Sermer M, Connelly PW, Maguire G, Zinman B, Hanley AJ, Retnakaran R. 2007. Maternal serum adiponectin and infant birthweight: the role of adiponectin isoform distribution. *Clinical endocrinology*, 67(1):108-114.
- Ong K, Kratzsch J, Kiess W, Costello M, Scott C, Dunger D. 2000. Size at birth and cord blood levels of insulin, insulin-like growth factor I (IGF-I), IGF-II, IGF-binding protein-1 (IGFBP-1), IGFBP-3, and the soluble IGF-II/mannose-6-phosphate receptor in term human infants. The ALSPAC Study Team. Avon Longitudinal Study of Pregnancy and Childhood. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 85(11):4266-4269.
- O'Sullivan AJ, Kriketos AD, Martin A, Brown MA. 2006. Serum adiponectin levels in normal and hypertensive pregnancy. *Hypertension in pregnancy: official journal of the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy*, 25(3):193-203.
- Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Nakamura T, Nishida M, Kumada M, Okamoto Y, Ohashi K, Nagaretani H, Kishida K, Nishizawa H, Maeda N, Kobayashi H, Hiraoka H, Matsuzawa Y. 2003. Reciprocal association of C-reactive protein with adiponectin in blood stream and adipose tissue. *Circulation*, 107(5):671-674.
- Pajvani UB, Hawkins M, Combs TP, Rajala MW, Doebber T, Berger JP, Wagner JA, Wu M, Knopps A, Xiang AH, Utzschneider KM, Kahn SE, Olefsky JM, Buchanan TA, Scherer PE. 2004. Complex distribution, not absolute amount of adiponectin, correlates with thiazolidinedione-mediated improvement in insulin sensitivity. *The Journal of biological chemistry*, 279(13):12152-12162.
- Pardo IM, Geloneze B, Tambascia MA, Barros-Filho AA. 2004. Hyperadiponectinemia in newborns: relationship with leptin levels and birth weight. *Obesity research*, 12(3):521-524.

- Pardo IM, Geloneze B, Tambascia MA, Barros AA. 2005. Inverse relationship between cord blood adiponectin concentrations and the number of cigarettes smoked during pregnancy. *Diabetes, obesity & metabolism*, 7(2):144-147.
- Park SK, Oh SY, Lee MY, Yoon S, Kim KS, Kim JW. 2004. CCAAT/enhancer binding protein and nuclear factor-Y regulate adiponectin gene expression in adipose tissue. *Diabetes*, 53(11):2757-2766.
- Patterson RM, Pouliot MR. 1987. Neonatal morphometrics and perinatal outcome: Who is retarded?. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 157(3):691-693.
- Perks CM, Newcomb PV, Norman MR, Holly JM. 1999. Perks CM, Newcomb PV, Norman MR, Holly JM. *Journal of molecular endocrinology*, 22(2):141-150.
- Pinar H, Basu S, Hotmire K, Laffineuse L, Presley L, Carpenter M, Catalano PM, Hauguel-de Mouzon S. 2008. High molecular mass multimer complexes and vascular expression contribute to high adiponectin in the fetus. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 93(7):2885-2890.
- Rajaram S, Baylink DJ, Mohan S. 1997. Insulin-like growth factor-binding proteins in serum and other biological fluids: regulation and functions. *Endocrine reviews*, 18(6):801-831.
- Retnakaran R, Connelly PW, Maguire G, Sermer M, Zinman B, Hanley AJ. 2007. Decreased high-molecular-weight adiponectin in gestational diabetes: implications for the pathophysiology of Type 2 diabetes. *Diabetic medicine: a journal of the British Diabetic Association*, 24(3):245-252.
- Rinderknecht E, Humbel RE. 1976. Polypeptides with nonsuppressible insulin-like and cell-growth promoting activities in human serum: isolation, chemical characterization, and some biological properties of forms I and II. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 73(7):2365-2369.
- Rinderknecht E, Humbel RE. 1978. The amino acid sequence of human insulin-like growth factor I and its structural homology with proinsulin. *The Journal of biological chemistry*, 253(8):2769-2776.
- Roberts CT, Sohlstrom A, Kind KL, Grant PA, Earl RA, Robinson JS, Khong TY, Owens PC, Owens JA. 2001. Altered placental structure induced by maternal food restriction in guinea pigs: a role for circulating IGF-II and IGFBP-2 in the mother?. *22 Suppl A*:77-82.
- Rosenboom AL. 2007. Die Physiologie des Wachstums. *Annales Nestlé*, 65(3):99-110.
- Rosenzweig SA. 2004. What's new in the IGF-binding proteins?. *Growth hormone & IGF research: official journal of the Growth Hormone Research Society and the International IGF Research Society*, 14(5):329-336.
- Russo VC, Bach LA, Fosang AJ, Baker NL, Werther GA. 1997. Insulin-like growth factor binding protein-2 binds to cell surface proteoglycans in the rat brain olfactory bulb. *Endocrinology*, 138(11):4858-4867.

- Russo VC, Schütt BS, Andaloro E, Ymer SI, Hoefflich A, Ranke MB, Bach LA, Werther GA. 2005. Insulin-like growth factor binding protein-2 binding to extracellular matrix plays a critical role in neuroblastoma cell proliferation, migration, and invasion. *Endocrinology*, 146(10):4445-4455.
- Salmon WD Jr, Daughaday WH. 1957. A hormonally controlled serum factor which stimulates sulfate incorporation by cartilage in vitro. *The Journal of laboratory and clinical medicine*, 49(6):825-836.
- Schäffler A, Schölmerich J, Büchler C. 2005. Mechanisms of disease: adipocytokines and visceral adipose tissue-emerging role in nonalcoholic fatty liver disease. *Nature clinical practice. Gastroenterology & hepatology*, 2(6):273-280.
- Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. 1995. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *The Journal of biological chemistry*, 270(45):26746-26749.
- Schneider H, Husslein P, Schneider KTM, Hrsg 2006. *Die Geburtshilfe*. Dritte Auflage. Berlin: Springer.
- Schütt BS, Langkamp M, Rauschnabel U, Ranke MB, Elmlinger MW. 2004. Integrin-mediated action of insulin-like growth factor binding protein-2 in tumor cells. *Journal of molecular endocrinology*, 32(3):859-68.
- Schwartz GN, Warren MK, Sakano K, Szabo JM, Kessler SW, Pashapour A, Gress RE, Perdue JF. 1996. Comparative effects of insulin-like growth factor II (IGF-II) and IGF-II mutants specific for IGF-II/CIM6-P or IGF-I receptors on in vitro hematopoiesis. *Stem cells (Dayton, Ohio)*, 14(3):337-350.
- Shapiro L, Scherer PE. 1998. The crystal structure of a complement-1q family protein suggests an evolutionary link to tumor necrosis factor. *Current biology: CB*, 8(6):335-338.
- Shimasaki S, Ling N. 1991. Identification and molecular characterization of insulin-like growth factor binding proteins (IGFBP-1, -2, -3, -4, -5 and -6). *Progress in growth factor research*, 3(4):243-266.
- Shin JH, Kim JH, Lee WY, Shim JY. 2008. The expression of adiponectin receptors and the effects of adiponectin and leptin on airway smooth muscle cells. *Yonsei medical journal*, 49(5):804-810.
- Siahanidou T, Mandyla H, Papassotiriou GP, Papassotiriou I, Chrousos G. 2007. Circulating levels of adiponectin in preterm infants. *Archives of disease in childhood. Fetal and neonatal edition*, 92(4):F286-290.
- Sibley CP, Coan PM, Ferguson-Smith AC, Dean W, Hughes J, Smith P, Reik W, Burton GJ, Fowden AL, Constância M. 2004. Placental-specific insulin-like growth factor 2 (Igf2) regulates the diffusional exchange characteristics of the mouse placenta. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(21):8204-8208.
- Sivan E, Mazaki-Tovi S, Pariente C, Efraty Y, Schiff E, Hemi R, Kanety H. 2003. Adiponectin in human cord blood: relation to fetal birth weight and gender. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 88(12):5656-5660.

- Soheilykhah S, Mohammadi M, Mojibian M, Rahimi-Saghand S, Rashidi M, Hadinedoushan H, Afkhami-Ardekani M. 2009. Maternal serum adiponectin concentration in gestational diabetes. *Gynecological endocrinology: the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*, 25(9):593-596.
- Staiger H, Kausch C, Guirguis A, Weisser M, Maerker E, Stumvoll M, Lammers R, Machicao F, Häring HU. 2003. Induction of adiponectin gene expression in human myotubes by an adiponectin-containing HEK293 cell culture supernatant. *Diabetologia*, 46(7):956-960.
- Street ME, Seghini P, Fieni S, Ziveri MA, Volta C, Martorana D, Viani I, Gramellini D, Bernasconi S. 2006. Changes in interleukin-6 and IGF system and their relationships in placenta and cord blood in newborns with fetal growth restriction compared with controls. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*, 155(4):567-574.
- Struwe E, Berzl GM, Schild RL, Dötsch J. 2009. Gene expression of placental hormones regulating energy balance in small for gestational age neonates. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*, 142(1):38-42.
- Symonds ME, Mostyn A, Pearce S, Budge H, Stephenson T. 2003. Endocrine and nutritional regulation of fetal adipose tissue development. *The Journal of endocrinology*, 179(3):293-299.
- Takaya J, Yamato F, Higashino H, Kaneko K. 2007. Intracellular magnesium and adipokines in umbilical cord plasma and infant birth size. *Pediatric research*, 62(6):700-703.
- Terrien X, Bonvin E, Corroyer S, Tabary O, Clement A, Henrion Caude A. 2005. Intracellular colocalization and interaction of IGF-binding protein-2 with the cyclin-dependent kinase inhibitor p21CIP1/WAF1 during growth inhibition. *The Biochemical journal*, 392(Pt 3):457-465.
- Tsai PJ, Yu CH, Hsu SP, Lee YH, Chiou CH, Hsu YW, Ho SC, Chu CH. 2004. Cord plasma concentrations of adiponectin and leptin in healthy term neonates: positive correlation with birthweight and neonatal adiposity. *Clinical endocrinology*, 61(1):88-93.
- Tsao TS, Tomas E, Murrey HE, Hug C, Lee DH, Ruderman NB, Heuser JE, Lodish HF. 2003. Role of disulfide bonds in Acrp30/adiponectin structure and signaling specificity. Different oligomers activate different signal transduction pathways. *The Journal of biological chemistry*, 278(50):50810-50817.
- Tschritter O, Fritsche A, Thamer C, Haap M, Shirkavand F, Rahe S, Staiger H, Maerker E, Häring H, Stumvoll M. 2003. Plasma adiponectin concentrations predict insulin sensitivity of both glucose and lipid metabolism. *Diabetes*, 52(2):239-243.
- Tworoger SS, Mantzoros C, Hankinson SE. 2007. Relationship of plasma adiponectin with sex hormone and insulin-like growth factor levels. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 15(9):2217-2224.
- Vasseur F, Leprêtre F, Lacquemant C, Froguel P. 2003. The genetics of adiponectin. *Current diabetes reports*, 3(2):151-158.
- Verhaeghe J, van Bree R, Van Herck E. 2006. Maternal body size and birth weight: can insulin or adipokines do better?. *Metabolism: clinical and experimental*, 55(3):339-344.

- Viengchareun S, Zennaro MC, Pascual-Le Tallec L, Lombes M. 2002. Brown adipocytes are novel sites of expression and regulation of adiponectin and resistin. *FEBS letters*, 532(3):345-350.
- Wang Y, Xu A, Knight C, Xu LY, Cooper GJ. 2002. Hydroxylation and glycosylation of the four conserved lysine residues in the collagenous domain of adiponectin. Potential role in the modulation of its insulin-sensitizing activity. *The Journal of biological chemistry*, 277(22):19521-19529.
- Wang H, Wang H, Shen W, Huang H, Hu L, Ramdas L, Zhou YH, Liao WS, Fuller GN, Zhang W. 2003. Insulin-like growth factor binding protein 2 enhances glioblastoma invasion by activating invasion-enhancing genes. *Cancer research*, 63(15):4315-4321.
- Weerakiet S, Lertnarkorn K, Panburana P, Pitakitronakorn S, Vesathada K, Wansumrith S. 2006. Can adiponectin predict gestational diabetes?. *Gynecological endocrinology: the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*, 22(7):362-368.
- Wheatcroft SB, Kearney MT, Shah AM, Ezzat VA, Miell JR, Modo M, Williams SC, Cawthorn WP, Medina-Gomez G, Vidal-Puig A, Sethi JK, Crossey PA. 2007. IGF-binding protein-2 protects against the development of obesity and insulin resistance. *Diabetes*, 56(2):285-294.
- Whitehead JP, Richards AA, Hickman IJ, Macdonald GA, Prins JB. 2006. Adiponectin-a key adipokine in the metabolic syndrome. *Diabetes, obesity & metabolism*, 8(3):264-280.
- Wilcox MA, Johnson IR, Maynard PV, Smith SJ, Chilvers CED. 1993. The individualized birthweight ratio: a more logical outcome measure of pregnancy than birthweight alone. *BJOG An international Journal of Obstetrics and Gynecology*, 100(4):342-347.
- Winick, M. 1971. Cellular changes during placental and fetal growth. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 109:166-173.
- Wolf E, Lahm H, Wu M, Wanke R, Hoefflich A. 2000. Effects of IGFBP-2 overexpression in vitro and in vivo. *Pediatric nephrology (Berlin, Germany)*, 14(7):572-578.
- Wood TL, Streck RD, Pintar JE. 1992. Expression of the IGFBP-2 gene in post-implantation rat embryos. *Development (Cambridge, England)*, 114(1):59-66.
- Wulbrand U, Remmert G, Zöfel P, Wied M, Arnold R, Fehmann HC. 2000. mRNA expression patterns of insulin-like growth factor system components in human neuroendocrine tumours. *European journal of clinical investigation*, 30(8):729-739.
- Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, Mori Y, Ide T, Murakami K, Tsuboyama-Kasaoka N, Ezaki O, Akanuma Y, Gavrilova O, Vinson C, Reitman ML, Kagechika H, Shudo K, Yoda M, Nakano Y, Tobe K, Nagai R, Kimura S, Tomita M, Froguel P, Kadowaki T. 2001. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. *Nature medicine*, 7(8):941-946.
- Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Tsuchida A, Yokomizo T, Kita S, Sugiyama T, Miyagishi M, Hara K, Tsunoda M, Murakami K, Ohteki T, Uchida S, Takekawa S, Waki H, Tsuno NH, Shibata Y, Terauchi Y, Froguel P, Tobe K, Koyasu S, Taira K, Kitamura T, Shimizu T, Nagai R, Kadowaki

- T. 2003. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature*, 423(6941):762-769.
- Yoda-Murakami M, Taniguchi M, Takahashi K, Kawamata S, Saito K, Choi-Miura NH, Tomita M. 2001. Change in expression of GBP28/adiponectin in carbon tetrachloride-administrated mouse liver. *Biochemical and biophysical research communications*, 285(2):372-377.
- Zapf J, Kiefer M, Merryweather J, Musiarz F, Bauer D, Born W, Fischer JA, Froesch ER. 1990. Isolation from adult human serum of four insulin-like growth factor (IGF) binding proteins and molecular cloning of one of them that is increased by IGF I administration and in extrapancreatic tumor hypoglycemia. *The Journal of biological chemistry*, 265(25):14892-14898.
- Zappalà G, Rechler MM. 2009. IGFBP-3, hypoxia and TNF- α inhibit adiponectin transcription. *Biochemical and biophysical research communications*, 382(4):785-789.
- Zhang Y, Matheny M, Zolotukhin S, Tumer N, Scarpace PJ. 2002. Regulation of adiponectin and leptin gene expression in white and brown adipose tissues: influence of beta3-adrenergic agonists, retinoic acid, leptin and fasting. *Biochimica et biophysica acta*, 1584(2-3):115-122.
- Zhao X, Unterman TG, Donovan SM. 1995. Human growth hormone but not human insulin-like growth factor-I enhances recovery from neonatal malnutrition in rats. *The journal of nutrition*, 125(5):1316-1327.
- Zhou J, Bondy C. 1992. Insulin-like growth factor-II and its binding proteins in placental development. *Endocrinology*, 131(3):1230-1240.

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist, ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind, mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben:

Dr. med. K. Dawczynski,
Prof. Dr. med. E. Schleußner,
PD Dr. med. A. Hübler,
Prof. Dr. med. Schlattmann,
Dipl.-math. A. Branstädt,
S. Wittig,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Jena, den 18. September 2011

Heike Gerda de Vries

Lebenslauf

Heike Gerda de Vries

geboren am 30. August 1982 in Leer (Ostfriesland)

Schulische Ausbildung

1989 - 1993	Grundschule Logabirum
1993 - 1995	Orientierungsstufe Möörkenschule Leer
1995 - 2002	Teletta-Groß-Gymnasium Leer

Studium

08/2002	Pflegepraktikum im Kreiskrankenhaus Leer
10/2002	Beginn des Studiums Humanmedizin an der FSU Jena
09/2004	Physikum
06/2006	Beginn der experimentellen Arbeiten zur Dissertation
08/2007-	Praktisches Jahr in Jena, Erfurt, Altenburg
07/2008	
07/2008	Hospitationin der Klinik für Kinderchirurgie Klinikum Berlin-Buch
06/2009	Ärztliche Approbation

Facharztausbildung

10/2009	Assistenzärztin in der Kinderarztpraxis Dr. med. Th. Böhmer, Jena
---------	---

Jena, den 18. September 2011

Danksagung

Am Ende meiner Arbeit möchte ich von Herzen all den Menschen danken, ohne die dieses Werk nicht gelungen wäre. An erster Stelle natürlich Prof. Dr. med. E. Schleußner, der es mir ermöglichte, über dieses Thema an der Universitätsfrauenklinik zu promovieren und der trotz seiner kurz bemessenen Zeit immer wieder durch neue Einfälle diese Arbeit inspirierte.

Weiterhin danke ich PD Dr. med. A. Hübler für die Initiierung dieses Themas. Besonderer Dank gilt Dr. med. K. Dawczynski. In ihr fand ich eine hervorragende Betreuerin, die sich trotz Familie und täglicher Arbeit immer wieder Zeit nahm, mich mit hilfreichen Ratschlägen und Einfällen zu unterstützen, insbesondere dann, wenn der eigene Weitblick fehlte.

Ebenfalls möchte ich an dieser Stelle ganz herzlich allen Mitarbeitern des Hämalabors der Kinderklinik danken, die mich in ihr Team aufnahmen, mir die Notwendigkeit von Akribie im Labor verständlich machten, mir viele Fähigkeiten und viel Wissen über wissenschaftliches Arbeiten vermittelten und mir und meinen Proben immer viel Zeit, Geduld und Mühen entgegenbrachten. Hier seien im Speziellen Fr. N. Pfaffendorf und Fr. S. Wittig hervorzuheben.

Ein großer Dank den Hebammen, Ärzten und Mitarbeitern im Kreißsaal und Plazentalabor, die immer fleißig an meine Fragebögen, Serum- und Plazentaprobe gedacht haben, wenn ich selbst nicht im Kreißsaal sein konnte. An dieser Stelle möchte ich besonders Dr. rer. nat. L. Seyfahrt danken, die dabei sicher den größten Part übernommen hat.

Wichtig für diese Arbeit war die Bereitstellung und Aufarbeitung humaner Adipozyten. Dafür herzlicher Dank an Prof. Dr. Dr. S. Schultze-Mosgau aus der Klinik für Mund, Kiefer- und Gesichtschirurgie/Plastische Chirurgie der FSU Jena und Dr. rer. nat. M. Schmidt aus dem Institut für Biochemie II.

Auch wenn die Idee verworfen werden musste, möchte ich Prof. Dr. med. A. Habenicht vom Institut für Vaskuläre Medizin und seiner Mitarbeiterin Dr. rer. nat. S. Döpping für die Bereitstellung des Lasercapture-Gerätes und den unermüdlichen Versuch, Wege zu finden, die mRNA des Synzytiotrophoblasten nicht zu „grillen“, herzlich danken.

Der wichtigste Dank gilt den Frauen, die sich dazu bereit erklärt haben, ihr Serum, die Plazenta und etwas Nabelschnurblut für diese Arbeit zur Verfügung zu stellen. Ich hoffe, Sie und Ihr Kind sind gesund und haben viel Freude miteinander.

Natürlich möchte ich auch meinen Freunden danken, dafür, dass ihr mich, den Ostfriesen, in Thüringen herzlich aufgenommen, mit mir die Klippen des Medizinstudiums überwunden habt und in letzter Zeit viel Verständnis für mein Fernbleiben hattet.

Grenzenloser Dank gilt meiner Familie, meinen Eltern Gesine und Gerhard de Vries für ihre Liebe, ihre dauernde Unterstützung und für das Mitgeben ihrer Werte, meinen beiden Brüdern Erik und Matthias sowie ihren Familien für all das, was große Brüder ihren kleinen Schwestern geben und meinen Großeltern. Dazu gehört mein Freund Oliver, ohne den nicht nur diese Arbeit nur halb so schön formatiert wäre. Ich danke Dir für das Diskutieren über logische Zusammenhänge, für die Ergänzung meines mathematisch eingeschränkten Geistes, für das Steuer-Festhalten, wenn die Promotion und ich in schwieriges Fahrwasser gelangten, für Deine Hartnäckigkeit und für Deine Robustheit. Mögen sich all die Dinge erfüllen, die wir gemeinsam vorhaben.